



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



**Comportamento de misturas binárias
lipídicas na produção de micropartículas
por *spray chilling* e sua influência na
liberação de recheio hidrofílico**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do
título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

Marilene De Mori Morselli Ribeiro
Química

Prof. Dr. Daniel Barrera-Arellano
Orientador

Campinas - SP - Brasil

2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

R354c Ribeiro, Marilene de Mori Morselli
Comportamento de misturas binárias lipídicas na produção de micropartículas por spray chilling e sua influência na liberação de recheio hidrofílico / Marilene de Mori Morselli Ribeiro. -- Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientador: Daniel Barrera-Arellano
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Micropartículas lipídicas. 2. Spray chilling. 3. Misturas binárias I. Barrera-Arellano, Daniel. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Titulo em inglês: Behavior of binary lipid in the production of microparticles by spray chilling and its influence on the hydrophilic core release

Palavras-chave em inglês (Keywords): Lipid microparticles, Spray chilling, Binary mixtures

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Daniel Barrera-Arellano

Carlos Raimundo Ferreira Grosso

Valdecir Luccas

Data de defesa: 25/02/2010

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Daniel Barrera Arellano
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
(Orientador)

Professor Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
(Membro)

Dr. Valdecir Luccas
Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL
(Membro)

Professora Dr^a. Maria Helena Andrade Santana
Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP
(Membro Suplente)

Professora Dr^a. Caroline Joy Steel
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
(Membro Suplente)

*Aos meus queridos marido e filha, Almir e Marina
pelo grande amor, paciência e apoio.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, devo agradecer a Deus, pela vida e sabedoria e por sempre me iluminar e me guiar, o bom pastor.

Ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas.

Ao meu orientador, professor Dr. Daniel Barrera Arellano, pela oportunidade oferecida, orientação e principalmente pelo bom convívio neste período de trabalho. Com ele tive a oportunidade de enriquecer meu conhecimento, com suas argumentações científicas e sugestões.

Aos membros da banca por terem aceitado a participar da avaliação deste trabalho.

Ao grande incentivador deste trabalho, Dr Carlos Raimundo Grosso, que através de uma disciplina convenceu-me a pesquisar microcápsulas lipídicas. Agradeço a disposição, os ensinamentos e a disponibilidade do laboratório para realização dos experimentos e análises. Principalmente ao grande profissionalismo da Sra. Yara sempre pronta a auxiliar e participar durante este período de estudo, inclusive aos finais de semana.

Aos pesquisadores: Dra. Lireny e Dr. Renato pelas valiosas conversas, sugestões e sem dúvida pela grande amizade.

Aos colegas do laboratório: Rodrigo, Kelly, Rosana pela alegre convivência e auxílio ao desenvolvimento deste trabalho.

Um agradecimento especial e de coração deve ser feito à Katrina, excelente técnica, sempre me auxiliou nos experimentos com muita dedicação.

Ao meu querido amigo Dr. Chiu Ming por estar sempre disposto a ajudar e ser um amigo para todas as horas. Agradeço de coração por todos os momentos que passamos juntos e pela nossa eterna amizade.

Aos meus familiares que sempre me apoiaram. Aos meus pais, Otorina De Mori e Orlando Morselli *in memorian*, pela sólida formação dada por toda vida, meus eternos agradecimentos. Aos meus sogros, Fleury *in memorian* e Edna e minha cunhada Heloísa que me deram abrigo em Campinas e incentivo. A minha querida prima Helô e amiga, sempre pronta a auxiliar-me.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Um pouco de ciência nos afasta de Deus.
Muito, nos aproxima”
(Louis Pasteur)*

*“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original”
(Albert Einstein)*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	JUSTIFICATIVA	3
3	OBJETIVOS	4
3.1	Objetivo geral	4
3.2	Objetivos específicos	4
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4.1	Microencapsulação	5
4.1.1	Definição e aplicação	5
4.1.2	Técnicas de microencapsulação	7
4.1.3	Materiais de parede	15
4.1.4	Tensoativos	22
4.1.5	Recheios	24
4.1.6	Nanopartículas lipídicas	25
4.1.7	Técnicas analíticas aplicadas a lipídios	27
5	MATERIAL E MÉTODOS	34
5.1	Material	34
5.2	Métodos	34
5.2.1	Métodos analíticos	34
5.2.2	Procedimento Experimental	41
5.2.3	Produção das micropartículas lipídicas (MpL) por <i>spray chilling</i> ..	42
5.2.4	Análise estatística	44
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1	Caracterização das matérias-primas	45
6.2	Caracterização das misturas lipídicas	48
6.2.1	Determinação dos pontos de fusão	48
6.2.2	Avaliação térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC)....	50
6.3	Preparo e estabilidade das emulsões	80
6.4	Produção das micropartículas lipídicas (MpLs)	81

6.4.1	Caracterização das micropartículas lipídicas	84
7	CONCLUSÕES	105
8	SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS.....	106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura esquematizada do ácido linoleico (C18:2)	17
Figura 2 - Estrutura esquematizada das classes de acilgliceróis: (a) monoacilglicerol; (b) 1,2 diacilglicerol; (c) 1,3 diacilglicerol e (d) 1,2,3, triacilglicerol	18
Figura 3 - Estrutura esquematizada do álcool cetílico	18
Figura 4 - Tipos de empacotamento de cadeias (a) e estruturas das subcélulas das três formas mais comuns de polimorfismos em triacilgliceróis (b)	21
Figura 5 - Diagrama de produção das micropartículas	43
Figura 6 – Composição de triacilgliceróis do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) quanto ao número de carbonos das análises cromatográficas e do programa de computador	47
Figura 7 - Termogramas de fusão das misturas de ácido esteárico (AE) e ácido oléico (AO) (p/p)	52
Figura 8 – Termogramas de cristalização das misturas de ácido esteárico (AE) e ácido oléico (AO) (p/p)	54
Figura 9 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 1 (ácido esteárico e ácido oléico – 50/50 - p/p)	55
Figura 10 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 2 (ácido esteárico e ácido oléico – 60/40 - p/p)	55
Figura 11 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 3 (ácido esteárico e ácido oléico – 70/30 – p/p)	56
Figura 12 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 4 (ácido esteárico e ácido oléico – 80/20 – p/p)	56
Figura 13 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 5 (ácido esteárico e ácido oléico - 90:10 - p/p)	57
Figura 14 - Curvas de fusão e cristalização do ácido esteárico (AE)	57

Figura 15 - Curvas de fusão e cristalização do ácido oléico (AO)	58
Figura 16 - Termogramas de fusão das misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO) (p/p)	60
Figura 17 - Termogramas de cristalização das misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO) (p/p)	62
Figura 18 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 7 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 50/50 – p/p)	63
Figura 19 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 8 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 60/40 – p/p)	63
Figura 20 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 9 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 70/30 – p/p)	64
Figura 21 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 10 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 80/20 – p/p)	64
Figura 22 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 11 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 90/10 – p/p)	65
Figura 23 - Curvas de fusão e cristalização do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH)	65
Figura 24 – Termogramas de fusão das misturas do álcool cetosteárilico (ACE) e ácido oléico (AO) (p/p)	68
Figura 25 – Termogramas de cristalização das misturas do álcool cetosteárilico (ACE) e ácido oléico (AO) (p/p)	70
Figura 26 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 13 (álcool cetosteárilico e ácido oléico – 50/50 – p/p)	71
Figura 27 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 14 (álcool cetosteárilico e ácido oléico – 60/40 – p/p)	71
Figura 28 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 15 (álcool cetosteárilico e ácido oléico – 70/30 – p/p)	72

Figura 29 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 16 (álcool cetoestearílico e ácido oléico – 80/20 – p/p).....	72
Figura 30 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 17 (álcool cetoestearílico e ácido oléico – 90/10 – p/p).....	73
Figura 31 - Curvas de fusão e cristalização do álcool cetoestearílico (ACE)	73
Figura 32 - Conteúdo de gordura sólida (SFC) em função da temperatura em misturas de ácido esteárico e ácido oléico (p/p).....	75
Figura 33 – Diagrama iso-sólidos das misturas de ácido esteárico e ácido oléico (p/p).	76
Figura 34 - Conteúdo de gordura sólida (%) em função da temperatura para misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (p/p)	77
Figura 35 – Diagrama de iso-sólidos das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (p/p)	78
Figura 36 - Conteúdo de gordura sólida em função da temperatura para misturas de álcool cetoestearílico e ácido oléico (p/p)	79
Figura 37 - Diagrama de iso-sólidos das misturas de álcool cetoestearílico e ácido oléico (p/p).....	80
Figura 38 - Fotos misturas Ácido esteárico / Ácido oléico.....	82
Figura 39 - Fotos misturas Óleo de soja totalmente hidrogenado/ Ácido oléico.....	82
Figura 40 - Fotos misturas Álcool cetoestearílico/ Ácido oléico.....	83
Figura 41 - Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas de misturas de ácido esteárico e ácido oléico. Proporções: (Mistura 3) 70/30, (Mistura 4) 80/20, (Mistura 5) 90/10 e (6) 100/0. Aumento 12,5 x. Barra = 100µm.....	89
Figura 42 - Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico. Proporções: (Mistura 8) 60/40, (Mistura 9) 70/30 e (Mistura 10) 80/20. Aumento 12,5 x. Barra = 100µm	90

- Figura 43 - Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas de misturas de álcool cetoestearílico e ácido oléico. Proporções: (Mistura 16) 80/20, (Mistura 17) 90/10 e (18) 100/0. Aumento 12,5 x. Barra = 100µm91
- Figura 44 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de ácido esteárico e ácido oléico (proporção lipídica 70/30) imagens 3 (100x) e 3a (350x).92
- Figura 45 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de ácido esteárico e ácido oléico (proporção lipídica 80/20) imagens 4 (100x) e 4a (350x).93
- Figura 46 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de ácido esteárico e ácido oléico (proporção lipídica 90/10) imagens 5 (100x) e 5a (350x).93
- Figura 47 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas de ácido esteárico (proporção lipídica 100/0) imagens 6 (100x) e 6a (350x).93
- Figura 48 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (proporção lipídica 60/40) imagens 8 (100x) e 8a (350x).94
- Figura 49 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (proporção lipídica 70/30) imagens 9 (100x) e 9a (350x).94
- Figura 50 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (proporção lipídica 80/20) imagens 10 (100x) e 10a (350x).95
- Figura 51 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas das misturas de álcool cetoestearílico e ácido oléico (proporção lipídica 80/20) imagens 16 (100x) e 16a (350x).95

- Figura 52 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico (proporção lipídica 90/10) imagens 17 (100x) e 17a (350x).96
- Figura 53 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico (proporção lipídica 100/0) imagens 18 (100x) e 18a (350x).96
- Figura 54 - Liberação (%) de glicose em meio aquoso das misturas de ácido esteárico e ácido oléico. Mistura 3 (70/30), Mistura 4 (80/20) Mistura 5 (90/10) e 6 (100/0)...101
- Figura 55 - Liberação (%) de glicose em meio aquoso das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico. Proporções: Mistura 8 (60/40) Mistura 9 (70/30) e Mistura 10 (80/20).....102
- Figura 56 - Liberação (%) de glicose em meio aquoso das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico. Proporções: Mistura 16 (80/20), Mistura 17 (90/10) e 18 (100/0).....103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Faixas de HLB e aplicações.....	23
Tabela 2 – Composição das misturas lipídicas escolhidas para a produção de MpL* (%)	42
Tabela 3 - Composições em ácidos graxos (%) e pontos de fusão das matérias-primas.	45
Tabela 4 - Composição de triacilgliceróis do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH)	46
Tabela 5 – Composição de álcoois graxos e ponto de fusão do álcool cetosteárilico (ACE)	48
Tabela 6 – Ponto de fusão das misturas das matérias primas lipídicas (%)	49
Tabela 7 – Comportamento térmico (DSC) de fusão das misturas de ácido esteárico e ácido oléico.	51
Tabela 8 – Comportamento térmico (DSC) de cristalização das misturas de ácido esteárico e ácido oléico.....	53
Tabela 9 – Comportamento térmico (DSC) de fusão das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico.....	59
Tabela 10 – Comportamento térmico (DSC) de cristalização das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico	61
Tabela 11 – Comportamento térmico (DSC) de fusão das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico	67
Tabela 12 – Comportamento térmico (DSC) de cristalização das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico	69
Tabela 13 - Viscosidades das emulsões durante o processo de produção das micropartículas.....	84

Tabela 14 - Diâmetro médio, desvio padrão e distribuição de tamanho das micropartículas de misturas de ácido esteárico e ácido oléico.....	86
Tabela 15 - Diâmetro médio, desvio padrão e distribuição de tamanho das micropartículas de misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico	87
Tabela 16 - Diâmetro médio, desvio padrão e distribuição de tamanho das micropartículas de misturas de álcool cetoestearílico e ácido oléico	88
Tabela 17 - Resultados de eficiência de encapsulação efetiva (%) e glicose superficial (%)	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	Ácido esteárico
AO	Ácido oléico
STH	Óleo de soja totalmente hidrogenado
ACE	Álcool cetosteárilico
AG	Ácidos graxos
AGI	Ácidos graxos insaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
TAG	Triacilglicerol
ALG	Álcool graxo
LCD	Nanopartículas conjugadas
MpL	Micropartículas lipídicas
NLC	Carreadores lipídicos nanoestruturados
SNL	Nanopartículas lipídicas sólidas
HLB	Balanco hidrofílico-lipofílico
A/O	Emulsão água dispersa em óleo
O/A	Emulsão óleo disperso em água
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
SFC	Conteúdo de gordura sólida

RESUMO

A facilidade de obtenção de micropartículas lipídicas e a possibilidade de produção em escala industrial aumentam o interesse do mercado alimentício de processar este tipo de material. Contudo, estas micropartículas apresentam desvantagens com relação à baixa encapsulação e à expulsão de material de recheio durante a estocagem. Assim, a finalidade deste trabalho foi estudar o comportamento das microcápsulas lipídicas produzidas pelo processo *spray chilling* utilizando as seguintes misturas em diferentes proporções: ácidos esteárico (AE) e oléico (AO), óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO), álcool cetoestearílico (ACE) e ácido oléico (AO) como materiais de parede (matriz), lecitina de soja como tensoativo e solução de glicose como recheio. O objetivo foi aumentar a eficiência de encapsulação, verificando o efeito da composição e estrutura da matriz lipídica. Para este propósito, foram caracterizadas as matérias-primas lipídicas em composição de ácidos graxos e triacilgliceróis, bem como, as misturas lipídicas avaliadas por calorimetria diferencial de varredura (DSC), teor de gordura sólida (SFC) e curva de iso-sólidos. Nas micropartículas, foram avaliadas morfologia de superfície e microestrutura, tamanho e distribuição de partícula, quantidade de glicose superficial (não encapsulada), eficiência de encapsulação e perfil de liberação em solução aquosa. As micropartículas apresentaram formas esféricas e rugosas, com diâmetros médios entre 83 e 115 μm . Os resultados de eficiência de encapsulação nas misturas do AE e STH foram acima de 75% e nas misturas do ACE menor que 9%. A liberação do recheio foi avaliada a cada 30 minutos por 2 horas, obtendo-se valores de 28 a 89% ao término deste período para as misturas do AE e STH. Foi observado, nestas misturas, que a liberação de recheio é inversamente proporcional à quantidade de AO na mistura lipídica. Nas misturas do ACE, a liberação foi de 100% (efeito *burst*). A adição do lipídio líquido (AO) ao lipídio sólido (AE e STH) foi um fator determinante na modificação da cristalização da mistura lipídica, proporcionando uma alta eficiência de encapsulação.

Palavras-chave: micropartículas lipídicas; *spray chilling*; misturas binárias lipídicas; liberação de recheio hidrofílico.

ABSTRACT

The ease to obtain lipid microparticles and the possibility of their production in an industrial scale increase the interest of the food market to process this kind of particles. However, these microparticles present disadvantages with regard to low encapsulation and the expulsion of the core material core during storage. Thus, the purpose of this work was to study the behavior of lipid microcapsules produced by the spray chilling process, using the following mixtures in different proportions: stearic acid (SA) and oleic acid (OA), fully hydrogenated soybean oil (FHSO) and oleic acid (OA), cetostearyl alcohol (CEA) and oleic acid (OA) as the wall material (matrix), soy lecithin as surfactant and glucose solution as core. The objective was to increase the encapsulation efficiency, checking the composition effect and the lipid matrix structure. For this purpose, the lipid materials were characterized as to their fatty acids and triacylglycerol composition and the lipid mixtures were evaluated by differential scanning calorimetry (DSC), solid fat content (SFC) and iso-solid curve. The surface morphology and microstructure were evaluated in the microparticles, as well as the particle size distribution, amount of core on the surface (not encapsulated), the encapsulation efficiency and controlled-release in an aqueous solution. The microparticles showed spherical and wrinkled shape with average diameters between 83 and 115 μm . The results of encapsulation efficiency of the mixtures with SA and FHSO were over 75% and lower than 9% in the mixtures with CEA. The core release was evaluated every 30 minutes for 2 hours obtaining values from 28 to 89% at the end of this period for the mixtures SA and FHSO. It was observed, in these mixtures, that the core release is inversely proportional to the quantity of AO in the lipid mixture. In the CEA mixtures, the core release was above 100% (burst effect). The addition of the liquid lipid (OA) to the solid lipid (SA and FHSO) was a determining factor in the modification of the crystallization of the lipid mixture providing high encapsulation efficiency.

Keywords: lipid microparticles; spray chilling; binary lipid mixtures; hydrophilic core release.

1 INTRODUÇÃO

A microencapsulação é uma tecnologia estudada desde os anos 30, utilizada para recobrir substâncias no estado líquido, sólido ou gasoso com materiais de parede que protegem contra efeitos adversos do meio e ao meio no caso de recheios que são perigosos ou tóxicos (RÉ, 2000). As microcápsulas são partículas pequenas que contém agentes ativos e matérias de recobrimento incluindo uma variedade de polímeros, carboidratos, gorduras e ceras. As aplicações para esta técnica têm aumentado na indústria de alimentos, onde os materiais encapsulados, vitaminas, essências e outros, são protegidos da umidade, oxidação, aquecimento e outras condições extremas, evitando reações químicas com outros componentes das formulações alimentícias, bem como o controle de liberação do princípio ativo da microcápsula (GIBBS *et al*, 1999).

O controle de liberação é uma tecnologia recente que pode ser utilizada para aumentar a efetividade de muitos ingredientes. Teve aplicação inicial na indústria farmacêutica (SAVOLAINEN *et al*, 2002) sendo expandida para as indústrias alimentícia, de agroquímicos e de medicamentos para uso veterinário. As vantagens são que os ingredientes ativos podem ser liberados a taxas controladas durante períodos de tempo prolongados.

Por exemplo, aromatizantes e nutrientes podem ser liberados durante o consumo, dióxido de carbono liberado quando um ácido reage com o carbonato de sódio durante o cozimento, etc (POTHAKAMURY *et al*, 1995).

A utilização de lipídios para a produção de micropartículas é conhecida na área farmacêutica há muitos anos, bem como a técnica de *spray chilling* ou *congealing*, e a influência que este processo exerce no efeito polimórfico e nas propriedades de cristalização dos lipídios (ELDEM *et al*, 1991a).

Atualmente, a técnica de *spray chilling* ganha considerável atenção, por ser um processo físico rápido, seguro e reprodutível, obtendo um fácil ajuste de tamanho de partícula, onde é atomizada a solução ou emulsão do recheio numa matriz de lipídio fundida (ALBERTINI *et al*, 2008), a qual apresenta temperaturas relativamente baixas

de fusão (45 - 85°C). As micropartículas atomizadas solidificam rapidamente, devido à exposição numa câmara fria (ar frio ou N₂ líquido). No processo de solidificação e cristalização, os lipídios apresentam um fenômeno importante denominado polimorfismo, que é a capacidade de uma molécula ter mais que uma forma cristalina dependendo do arranjo do núcleo do cristal (SATO *et al*, 2005). Mediante esta propriedade específica, as microcápsulas lipídicas sólidas, bem como as nanopartículas (SLN – *solid lipid nanoparticles*) desenvolvidas por homogeneização a alta pressão (LIEDTKE *et al*, 2000) podem apresentar baixa eficiência de encapsulação e expulsão do recheio durante o período de armazenagem. Foram realizados estudos para minimizar este efeito, produzindo nanopartículas com mistura de lipídios sólidos e líquidos (NLC - *nanostuctured lipid carriers*). O lipídio líquido modifica a cinética de cristalização, alterando a organização da rede cristalina, com o objetivo de aumentar a capacidade de encapsulação e diminuir a expulsão do recheio (MÜLLER *et al*, 2002a).

Para auxiliar a incorporação do recheio à matriz lipídica pode-se adicionar lecitina como emulsificante, sendo este tensoativo muito utilizado em alimentos. A lecitina comercial é uma mistura de fosfolipídios, onde predomina a fosfatidilcolina. As cadeias acil dos fosfolipídios apresentam diferentes tamanhos e graus de insaturações, influenciando a parte lipídica e, conseqüentemente, os sistemas de emulsão e dispersão (NILL *et al*, 2004). A concentração da fosfatidilcolina altera o valor do balanço hidrofílico-lipofílico (HLB), fator importante na determinação do sistema de emulsão, óleo em água ou água em óleo.

Assim, este estudo investigou o comportamento de cristalização dos lipídios como matrizes em micropartículas sólidas, com foco na área alimentícia, com aplicação, por exemplo, em produtos nutracêuticos. O objetivo foi produzir micropartículas lipídicas sólidas pelo processo de *spray chilling*, utilizando misturas de (i) ácidos esteárico (AE) e oléico (AO), (ii) óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e oléico (AO) e (iii) álcool cetosteárico (ACE) e ácido oléico (AO) em diferentes proporções, contendo lecitina como emulsificante e solução de glicose como material de recheio. As misturas lipídicas provenientes de produtos comerciais foram caracterizadas pela composição em ácidos graxos, triacilgliceróis e álcoois graxos, análise térmica e teor de gordura sólida. As micropartículas lipídicas produzidas foram analisadas com relação à morfologia,

tamanho de partícula, eficiência de encapsulação, glicose superficial e perfil de liberação do recheio.

2 JUSTIFICATIVA

O estudo e o desenvolvimento de microcápsulas lipídicas a partir de emulsões contendo lipídios, tensoativo e recheio hidrofílico, disponíveis e economicamente viáveis no Brasil, tornam-se necessários, considerando o interesse da indústria alimentícia em aprimorar e aprofundar os conhecimentos desta técnica.

Características funcionais importantes para a aplicação proposta, como: morfologia, distribuição de tamanho, perfis de liberação e capacidade de hidratação, foram determinadas para todos os tipos de micropartículas produzidas.

Além disso, o lançamento de novos produtos para o mercado alimentício com a adição de aditivos (alimentos nutracêuticos), solicita estudos para que estas substâncias melhorem a eficácia e forneçam uma dosagem de ativo necessária ao alimento.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudo do efeito da adição de ácido oléico (lipídio) em misturas de lipídios saturados (sólidos) nas características e propriedades das micropartículas lipídicas (MpL) com recheio hidrofílico produzidas por *spray chilling*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterização das matérias-primas lipídicas;
- Preparação de misturas lipídicas contendo lipídios saturados (ácido esteárico, óleo de soja totalmente hidrogenado e álcool cetoestearílico - sólidos) e insaturado (ácido oléico – líquido);
- Estudo do comportamento térmico das misturas lipídicas;
- Determinação das condições de processo na produção de micropartículas lipídicas (MpL) com recheio hidrofílico pelo método *spray chilling*;
- Determinação das características morfológicas e de distribuição de tamanho das MpL;
- Determinação do efeito da adição do ácido oléico na matriz lipídica relacionado à eficiência de encapsulação e liberação do recheio.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 MICROENCAPSULAÇÃO

4.1.1 Definição e aplicação

Microencapsulação é uma técnica onde um material líquido, sólido ou gasoso chamado de recheio, é recoberto por uma substância denominada material de parede ou matriz. A microcápsula pode ter diferentes formas, tais como um recobrimento de membrana simples, uma parede ou membrana, esférica ou irregular, uma estrutura de multiparedes de mesma composição ou variadas ou diversos recheios com uma mesma estrutura de parede (GIBBS *et al*, 1999). Pode ser mononucleada, na qual o recheio é envolvido por uma única camada de parede ou multinucleada, na qual o recheio é distribuído por toda a extensão da matriz. O tamanho pode variar de 1 μm a 1000 μm (THIES, 1995).

Em 1954, foi lançado o primeiro produto comercial, o papel de cópia sem carbono, muito utilizado em boletos bancários e notas fiscais. O verso da primeira via do formulário é revestido por camada de microcápsulas de tinta, contendo solução de um pigmento adequado disperso em partículas com diâmetro desde 1 até 10 micrômetros (μm). Ao serem pressionadas, tais microcápsulas se rompem, liberando o pigmento que, por contato direto com o revestimento ácido aplicado na superfície frontal da segunda via, muda de cor em função do pH, e propicia a obtenção da cópia (RÉ, 2000).

Esta técnica proporcionou uma contribuição importante na indústria farmacêutica, permitindo o desenvolvimento de fórmulas de liberação lenta, ou seja, aquelas com a capacidade de liberar os princípios ativos apenas nos órgãos onde devem agir, ou onde serão absorvidos. Outras aplicações incluem os lipossomas na indústria de cosméticos e produtos agroquímicos em biodefensivos para proteger contra efeitos do meio ambiente como radiação solar e manutenção da atividade biológica.

A microencapsulação na indústria alimentícia é utilizada na proteção de ingredientes alimentícios, tais como vitaminas, agentes flavorizantes ou sais, contra a ação de oxigênio, água ou luz. Previne a oxidação, a perda de substâncias voláteis e promove a liberação controlada do ingrediente ativo. No caso de alimentos funcionais que exibem um benefício além da nutrição básica, muitas vezes os ingredientes ativos podem impactar propriedades negativas sobre o gosto ou a textura. O desafio no desenvolvimento destes alimentos é incorporar estes ingredientes sem interferir na qualidade do produto. A microencapsulação pode ser uma técnica apropriada para esta finalidade (MELLEMA *et al*, 2006).

Shahidi *et al* (1993) propuseram seis razões para aplicar microencapsulação na indústria alimentícia: reduzir a reatividade do recheio com o meio ambiente; diminuir a taxa de transferência do recheio para o meio externo; facilitar o manuseio; controlar a liberação do recheio; mascarar o sabor do recheio; e finalmente diluir o recheio quando deve ser utilizado em pequenas quantidades.

Nos últimos anos, o conceito de liberação controlada do ingrediente encapsulado no lugar certo e no tempo desejado tornou-se interessante. A liberação controlada pode melhorar a eficácia de aditivos alimentares, aumentar o mercado de ingredientes e assegurar uma dosagem desejada (GOUIN, 2004).

Jeon *et al* (2005) estudaram pelo processo de *spray chilling* para a obtenção de microcápsulas de isoflavona solúvel em água com aplicação em leite. Examinaram o efeito do colesterol em ratos numa dieta com produto lácteo. A isoflavona possui um sabor amargo e cor castanha, impossibilitando a incorporação direta nos alimentos. A matriz utilizada foi um triacilglicerídeo de cadeia média e o recheio foi isoflavona solúvel em água, na razão lipídio para recheio de 15:1 (p/p). Concluíram que houve uma redução do colesterol no sangue dos ratos que foram alimentados durante 6 semanas com o leite aditivado.

No estudo realizado por Chiou *et al* (2007), foi desenvolvido um novo nutracêutico pelo processo de *spray drying*, contendo fibras naturais como material de parede e um bioativo (*Hibiscus sabdariffa* L.) como recheio. A microcápsula obtida possui dois produtos benéficos à saúde (fibras de frutas comestíveis e extrato de

hibiscus como antioxidante). Em estudo recente, foram produzidas microcápsulas de alginato de cálcio e probióticos (*Lactobacillus casei* Lc-01 e *Bifidobacterium lactis* Bb-12) para aditivo em sorvete (HOMAYOUNI *et al*, 2008).

4.1.2 Técnicas de microencapsulação

Existem vários métodos para a produção de microcápsulas. A escolha do mais adequado é feita dependendo da solubilidade do material do recheio e da substância da matriz; do tamanho desejado da cápsula; da espessura e da permeabilidade ideal da membrana, bem como da taxa e forma ideais de liberação. Em geral, os processos de microencapsulação podem ser classificados em três grupos conhecidos como químicos físicos e físico-químicos. No processo químico os métodos mais estudados são: polimerização interfacial e inclusão molecular. Os métodos físicos são *spray drying*, *spray chilling*, leite fluidizado, extrusão, centrifugação com múltiplos orifícios, co-cristalização e liofilização. Nos processos físicos-químicos são indicados coacervação simples ou complexa e envolvimento de lipossomas (RÉ, 2000; DESAI e PARK, 2005).

4.1.2.1 Polimerização interfacial

Polimerização interfacial é um método químico de microencapsulação. O uso de polimerização interfacial para alimentos é limitado, uma vez que as matrizes não são indicadas como grau alimentício. Esta técnica é caracterizada pela rápida formação de parede através da polimerização de monômeros na superfície das gotículas ou partículas de recheio disperso. Um monômero multifuncional é dissolvido no recheio, e esta solução é dispersa em uma fase aquosa. Polímeros que formam uma boa matriz são poliésteres, poliamidas, poliuretanos e poliuréias. Um reagente para o monômero é adicionado à fase aquosa, e a polimerização segue rapidamente na superfície das gotículas do recheio, formando as paredes da microcápsula.

Schmidt e Roessling (2006) estudaram a fabricação de microesferas em solução aquosa de polibutil-2-cianoacrilato, ocas, cheias de gás, com aplicação na indústria farmacêutica. O processo em duas fases permite o controle do tamanho da parede da

partícula, bem como o tamanho da partícula. Os tamanhos das partículas variaram de 1 a 5 μm . As micropartículas são formadas a partir de um tensoativo estabilizador de microbolhas, que funcionam como modelo. O volume de gás encapsulado foi de 5% ou mais.

4.1.2.2 Inclusão molecular

A inclusão molecular, também conhecida como inclusão por complexação, utiliza beta ciclodextrina para complexar e encapsular moléculas. A preparação dos complexos pode ser feita por três métodos. No primeiro método, a β -ciclodextrina é dissolvida em água e os aromas são adicionados para formar um complexo por inclusão na forma cristalina. No segundo método, a β -ciclodextrina é dissolvida numa menor quantidade de água do que no primeiro método para formar uma suspensão concentrada e os aromas são misturados para formar complexos por inclusão na forma cristalina. O complexo é separado e seco. No terceiro método, a β -ciclodextrina é dissolvida em uma quantidade pequena de água para formar uma pasta e os aromas são misturados para formar um complexo por inclusão. Este processo é superior ao segundo, porque não necessita separação e secagem.

Entre os métodos de microencapsulação, a inclusão molecular é o mais eficaz para proteger aromas. No entanto, a utilização de β -ciclodextrina para aplicação em alimentos é muito limitada, devido a requisitos regulamentares em certos países (JACKSON e LEE, 1991).

Koontz *et al* (2009) produziram microcápsulas por inclusão molecular de α -tocoferol e quercetina em dextrina. O objetivo do estudo foi o aperfeiçoamento do processo e a caracterização das microcápsulas com aplicação em embalagens alimentícias, controlando a liberação do ativo para aumentar a estabilidade oxidativa dos alimentos.

4.1.2.3 *Spray drying*

O processo de *spray drying* é o mais utilizado para encapsular ingredientes alimentícios, tais como aromas, lipídios e carotenóides. O método é econômico e flexível. As partículas obtidas apresentam boa qualidade. Durante o processo de secagem, a evaporação do solvente, que é mais frequentemente a água, é rápida e o encapsulamento ocorre quase instantaneamente. As matrizes utilizadas são normalmente carboidratos, tais como dextrinas, açúcares, amidos e gomas ou proteínas, tais como gelatina e proteína de soja. O processo de *spray drying* envolve a formação de uma emulsão ou suspensão da matriz e o recheio, bem como a atomização da emulsão dentro da câmara contendo a circulação de ar quente. As vantagens do processo de *spray drying* incluem diversidade e disponibilidade de equipamentos, boa qualidade das microcápsulas, variedade do tamanho de partículas e excelente solubilidade das partículas em meio aquoso. Algumas desvantagens são a baixa encapsulação e oxidação de compostos aromáticos.

Gharsallaoui *et al* (2007) relatam as principais informações de engenharia de processo que são consideradas úteis no sistema de microencapsulação por *spray drying*.

4.1.2.4 *Spray Chilling*

Atualmente a técnica de *spray chilling* (denominada também *spray cooling* ou *spray congealing*) ganha considerável atenção. É um processo físico rápido, seguro, sem uso de solvente, reproduzível, baixo valor de produção e de fácil ajuste de tamanho de partícula (ALBERTINI *et al*, 2008). É muito difundida nas áreas farmacêutica, cosmética, agrícola, veterinária como também em alimentos (CHAMBI *et al*, 2008).

O material a ser encapsulado é misturado à matriz fundida e atomizado por bicos dentro de uma câmara, onde as micropartículas se solidificam rapidamente ao entrar em contato com ar frio ou N₂ líquido na câmara em temperaturas abaixo do ponto de solidificação da gordura ou cera fundida. A performance do processo de *spray chilling* depende estritamente da eficiência da atomização da mistura fundida, que pode ser

pulverizada por diferentes diâmetros do bico atomizador. A viscosidade da mistura fundida é muito importante. Sua alimentação e a pressão utilizada no *spray*, resultarão numa distribuição homogênea das partículas. Um outro ponto importante é manter a temperatura constante durante o processamento para evitar o polimorfismo em gorduras, o que irá afetar no perfil de liberação do recheio. Diferentes taxas de resfriamento aplicadas podem resultar em cristalização da matriz em diferentes formas polimórficas. Especialmente, taxas rápidas de resfriamento cristalizam muitos triacilglicerídios na sua forma α . Assim, depois estes lipídios podem se transformar em suas estruturas polimórficas mais estáveis, liberando o recheio (ELDEM *et al*, 1991b; EMAS, 2000).

Na área alimentícia, são utilizados como matriz lipídios como: triacilglicerídios, diacilglicerídios, monoacilglicerídios, ácidos graxos livres e ceras naturais. A temperatura de fusão pode variar entre 45 °C e 85 °C.

As microcápsulas produzidas não são solúveis em água e liberam o recheio ao redor do ponto de fusão do material de parede. Consequentemente, esta técnica é ideal para encapsular recheios solúveis em água, como minerais, vitaminas solúveis em água, enzimas, acidulantes e algumas essências. Os ingredientes encapsulados por este método podem encontrar aplicações em misturas de sopas, alimentos com alto teor de gordura e produtos de panificação (DZIEZAK, 1988). Existem vários trabalhos na tecnologia de *spray chilling* nestes últimos anos, de desempenho e aperfeiçoamento de novos equipamentos com relação ao bico atomizador pneumático (ALBERTINI *et al*, 2008), ultrassom compacto e *spray congealing* (FINI *et al*, 2002), atomizador ultrassônico para dispersar as partículas atomizadas (RODRIGUEZ *et al*, 1999), etc.

4.1.2.5 Leito fluidizado

A técnica de leito fluidizado envolve suspender um recheio sólido na forma de pó em um leito fluidizado com ar quente ou frio, seguido pela atomização da matriz em solução ou fundida. A matriz seca ou solidificada sobre o recheio em pó forma um filme com certa espessura. A espessura e uniformidade da matriz são controladas pelo tempo do material atomizado. Como matrizes, são utilizados materiais solúveis em água

e solvente, como açúcares, dextrinas, gomas, derivados celulósicos, proteínas e ceras. Bicarbonato de sódio, vitaminas B e C e acidulantes são alguns ingredientes alimentícios encapsulados por este método (JACKSON e LEE, 1991).

Lin e Krochta (2006) estudaram o recobrimento de amendoim com proteína de soro de leite pelo processo de leite fluidizado. Os resultados comprovaram que a matriz foi eficaz para reduzir a rancidez oxidativa do amendoim.

4.1.2.6 Extrusão

Microencapsulação por extrusão envolve a projeção de uma emulsão da matriz e do recheio através de um orifício a altas pressões. A técnica de extrusão ocupa o segundo lugar, atrás do processo de *spray drying* como meio mais freqüente para encapsular aromas. Um processo típico envolve misturar materiais aromáticos com xarope de milho quente ou amido modificado e extrudar a mistura na forma de *pellets* dentro de um banho de solvente frio tal como isopropanol. O solvente frio solidifica o xarope em um sólido amorfo e lava o residual do óleo aromático da superfície. Aromas extrudados apresentam um grande aumento de estabilidade comparados a aromas não revestidos, tornando a forma sólida mais fácil de manusear (DZIEZAK, 1988).

4.1.2.7 Centrifugação com múltiplos orifícios

É um processo utilizado para microencapsular recheios líquidos ou sólidos dispersos com diferentes tipos de matrizes. Recheio e matriz são bombeados através de tubos concêntricos separados dentro de uma cabeça rotativa contendo muitos furos. Estas matrizes incluem gelatina, alginato de sódio, carragena, amidos, derivados de celulose, gomas, ácidos graxos, ceras e polietileno glicol. Como recheios são indicados aromas, temperos e vitaminas (DESAI e PARK, 2005).

4.1.2.8 Co-cristalização

A co-cristalização é um novo processo de encapsulação utilizando a sacarose como matriz para incorporar recheios. O xarope de sacarose é concentrado no estado supersaturado e mantido a alta temperatura para prevenir a cristalização. Uma quantidade de recheio é adicionada ao xarope concentrado com forte agitação mecânica, promovendo assim a nucleação da mistura sacarose/recheio a cristalizar. Uma quantidade substancial de calor é emitida. A agitação é contínua para promover e estender a cristalização até a descarga do recipiente. Os produtos encapsulados são secos. É muito importante controlar as taxas de nucleação e cristalização, bem como, o balanço térmico durante as variações de fases. O processo de co-cristalização é utilizado para encapsular óleos essenciais, sucos de frutas, aromas voláteis e aromas secos (DESAI e PARK, 2005).

Lactato de cálcio, sulfato de magnésio e extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis*) foram encapsulados por co-cristalização em uma solução supersaturada de sacarose. A técnica estudada obteve diferentes produtos co-cristalizados com alta concentração de compostos ativos. Os encapsulados obtidos eram fluídos e estáveis a condições de alta umidade (DELADINO *et al*, 2007).

4.1.2.9 Liofilização

A liofilização é um processo utilizado para desidratar quase todos os materiais sensíveis ao calor. É usada para encapsular essências solúveis em água, aromas naturais, bem como medicamentos. Exceto ao longo período de desidratação requerido (geralmente 20 horas) é uma técnica simples. A liofilização trabalha congelando o alimento, passando-se então para a produção de vácuo e aumento gradativo da temperatura, reduzindo-se deste modo à pressão circunvizinha, o que permite à água congelada no material passar diretamente da fase sólida ao gás (sublimação) sem, entretanto destruir-lhe as propriedades nutritivas, pois mantém intactas as paredes celulares. O alto custo e longo tempo de processo prejudicam aplicabilidade comercial.

Kos *et al* (2008) estudaram cepas bacterianas probióticas com aplicação em fermentação em silagem, couve-flor e leite. As células probióticas encapsuladas permaneceram viáveis durante 75 dias a -20 °C, + 4 °C e + 15 °C.

4.1.2.10 Coacervação simples ou complexa/ separação de fases

Coacervação envolve três passos. Primeiramente, três fases imiscíveis são misturadas; como fase contínua a água, o recheio e a matriz. No segundo passo, a matriz é depositada no recheio. Esta etapa acontece alterando o pH, temperatura e força iônica, o que resulta em uma separação de fase da matriz e a encapsulação do recheio disperso. Finalmente, a matriz é solidificada pela temperatura, *cross-linking* ou técnicas de retirada do solvente (JACKSON e LEE, 1991).

A coacervação pode ser: simples, onde a separação da fase líquida ocorre pela adição de um eletrólito à solução coloidal; ou complexa que resulta da neutralização mútua de dois colóides carregados com cargas opostas em solução aquosa.

A coacervação simples envolve um único polímero e ocorre pela remoção do solvente que envolve as moléculas do colóide, através do uso de um outro composto que compete com o polímero pela água, como sais ou álcoois. Com a saída do solvente, as moléculas do polieletrólito se aproximam e formam aglomerados (VASILIU *et al*, 2005).

A coacervação complexa envolve a solubilização de dois polímeros conjuntamente, e a expulsão do solvente ocorre devido a atrações e as neutralizações das cargas das matrizes formadas pelas cadeias agregadas dos dois polímeros. Essa atração ocorre em condições específicas do meio nas quais os polímeros apresentam cargas opostas (KRUIF *et al*, 2004).

Prata *et al* (2008) estudaram micropartículas de óleo de vetiver (capim-de-cheiro) contendo gelatina e goma arábica preparadas por coacervação complexa, seguida por *cross-linking* com glutaraldeído ou transglutaminase.

4.1.2.11 Envolvimento lipossômico

Lipossomas são pequenas vesículas esféricas formadas por bicamadas concêntricas de fosfolipídios que se organizam espontaneamente em meio aquoso. Os lipossomas podem ser classificados tanto com relação ao seu tamanho e número de lamelas, quanto à sua interação com um meio biológico. De acordo com os diâmetros médios em três categorias: Vesículas Multilamelares (MLV – *Multilamellar Vesicles*): formas lipossomais formadas por bicamadas fosfolipídicas concêntricas intercaladas por compartimentos aquosos, cujo diâmetro varia de 400 a 3500 nm. Vesículas unilamelares grandes (LUV – *Large Unilamellar Vesicles*): formas lipossomais constituídas por apenas uma bicamada fosfolipídica, mas com uma grande cavidade aquosa. Diâmetro varia de 200 a 1000 nm. Vesículas unilamelares pequenas (SUV – *Small Unilamer Vesicles*): formas lipossomais constituídas por apenas uma bicamada fosfolipídica e um pequeno compartimento aquoso. Diâmetro varia de 20 a 50 nm.

De acordo com a carga, lipossomas podem ser classificados como catiônicos (carga positiva), aniônicos (carga negativa) e neutros (sem carga). A eficiência de encapsulação depende do tipo de lipossoma usado e da solubilidade do recheio em água. Recheios solúveis em água têm maior eficiência de encapsulação que materiais hidrofóbicos. Uma vantagem dos lipossomas sobre outros tipos de microcápsulas é que a carga, pH, permeabilidade e estabilidade da membrana lipossômica podem ser manipulados (JACKSON e LEE, 1991).

Na indústria alimentícia, os lipossomas são utilizados para fornecer sabores e nutrientes aos alimentos. Recentemente, foi investigada a eficiência de incorporar antimicrobianos em alimentos, que podem ajudar na proteção contra o crescimento de microorganismos patogênicos e deteriorantes. Taylor *et al* (2005) escreveram uma revisão sobre lipossomas em alimentos e agricultura.

Lipossomas são utilizados para encapsular sistemas enzimáticos que aceleram o amadurecimento do queijo e em aditivação de vitaminas (NONGONIERMA *et al*, 2009; BANVILLE *et al*, 2000).

4.1.3 Materiais de parede

O material de parede (matriz) é o principal determinante das propriedades funcionais da microcápsula e como ela pode ser utilizada para melhorar o desempenho de um determinado ingrediente. Uma matriz ideal deverá apresentar as seguintes características: boas propriedades reológicas em alta concentração e de fácil manuseio durante a encapsulação; capacidade de dispersar ou emulsificar o material ativo e estabilizar a emulsão produzida; não reagir com o material a ser encapsulado durante o processamento, bem como, na armazenagem prolongada; capacidade de encapsular o material ativo durante o processo e armazenamento; capacidade de liberar completamente o solvente ou outros materiais utilizados durante o processo de encapsulação sob secagem ou outras condições de retirada de solvente; fornecer uma proteção máxima para o material ativo contra as condições ambientais (por exemplo, oxigênio, calor, luz, umidade); solubilidade em solventes aceitáveis para a indústria alimentícia (por exemplo, água, etanol); indispensável ter grau alimentício.

É muito difícil um material de parede atender todos os critérios acima, então são empregados aditivos como antioxidantes, agentes quelantes, tensoativos, etc. Modificações químicas nos atuais materiais de parede para manipular suas propriedades também são consideradas, conferindo melhores propriedades físicas e mecânicas (DESAI e PARK, 2005).

Entre os diversos tipos de materiais de parede utilizados podemos citar os lipídios (ácidos graxos, álcoois graxos, ceras, parafinas, óleos e gorduras hidrogenadas), proteínas (glúten, caseína, albumina, peptídios e gelatina), polissacarídeos (celulose e derivados) e carboidratos (amidos, amidos modificados, maltodextrinas, ciclodextrinas, xarope de milho, quitosana, goma arábica) que podem proporcionar uma ótima eficiência de encapsulação do material ativo (PASSERINI *et al*, 2003).

4.1.3.1 Lipídios

O termo lipídios é usado para definir compostos orgânicos que são insolúveis em água, solúveis em solventes orgânicos (por exemplo, clorofórmio, éter), contêm grupos de hidrocarbonetos como partes primárias da molécula, e estão sempre presentes em ou são derivados de organismos vivos (NICHOLS e SANDERSON, 2003). O seu estudo é muito importante nas áreas de bioquímica e nutrição (GUNSTONE, 2003).

A classificação dos lipídios é baseada em propriedades físicas (óleos são líquidos e gorduras são sólidas à temperatura ambiente), polaridade (polar ou neutro), essenciais ou não aos humanos, estrutura simples ou complexa.

Baseado na estrutura, os lipídios são classificados como simples, complexos e derivados. Lipídios simples são compostos de ácidos graxos e álcoois, incluem acilgliceróis, éter acilgliceróis, esteróis e seus éteres e ceras éteres. Em termos gerais, lipídios simples podem ser hidrolisados em dois compostos diferentes, usualmente um álcool e um ácido. Os lipídios complexos incluem glicerofosfolípidos (fosfolípidios), gliceroglicolipídios (glicolipídios) e esfingolipídios. Estas estruturas produzem três ou mais compostos diferentes na hidrólise (O'KEEFE, 2007).

Os lipídios derivados incluem ácidos graxos e álcoois, que são os blocos de construção para os lipídios simples e complexos. São considerados pertencentes a classes distintas, tais como, carotenóides, esteróis e vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (GUNSTONE, 1997).

Os ácidos graxos são caracterizados pela longa cadeia de átomos de carbono (geralmente de 12 a 22 átomos de carbono) com uma carboxila ao final. Podem apresentar cadeia saturada, insaturada, ramificada e oxigênio. Podem ser saturados de cadeia pequena e média ($C_4 - C_{14}$). As cadeias de $C_{20} - C_{30}$ estão presentes frequentemente em ceras. Os ácidos graxos insaturados apresentam tamanho de cadeia de $C_{10}-C_{30}$ e podem ter até seis duplas ligações, sendo C_{16} , C_{18} e C_{22} mais comuns (Figura 1). Mais de 1000 ácidos graxos naturais foram identificados, mas somente cerca de 30 estão presentes em óleos e gorduras (GUSNTONE, 2003).

Vários estudos avaliaram misturas binárias de ácidos graxos, com diferentes tamanhos de cadeias (C10 – C22) e graus de saturação. Os comportamentos de fases das misturas foram analisados por calorimetria diferencial de varredura (DSC) e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier, investigando a ocorrência de pontos eutéticos (COSTA *et al*, 2007; CEDEÑO *et al*, 2001; INOUE *et al*, 2004 a, b).



Figura 1 - Estrutura esquematizada do ácido linoleico (C18:2)

A maior família de lipídios são os acilgliceróis. O glicerol pode ser esterificado com um, dois ou três ácidos graxos (Figura 2) e os ácidos graxos individuais podem estar localizados em diferentes carbonos do glicerol. Os termos monoacilglicerol, diacilglicerol e triacilglicerol são indicados para estes compostos. O triacilglicerol apresenta a substituição total dos três grupos hidroxila na molécula de glicerol. Eles são normalmente denominados de óleos ou gorduras, dependendo do ponto de fusão (NICHOLS e SANDERSON, 2003).

Ribeiro *et al* (2009a) estudaram o comportamento de interesterificação química de misturas binárias de óleo de soja (OS) e óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) para aplicação em produtos alimentícios. Foram analisados composição de triacilglicerol, ponto de fusão, conteúdo de gordura sólida, diagrama de iso-sólidos e consistência. A interesterificação causou considerável rearranjo das espécies de triacilgliceróis, resultando na diminuição do ponto de fusão.

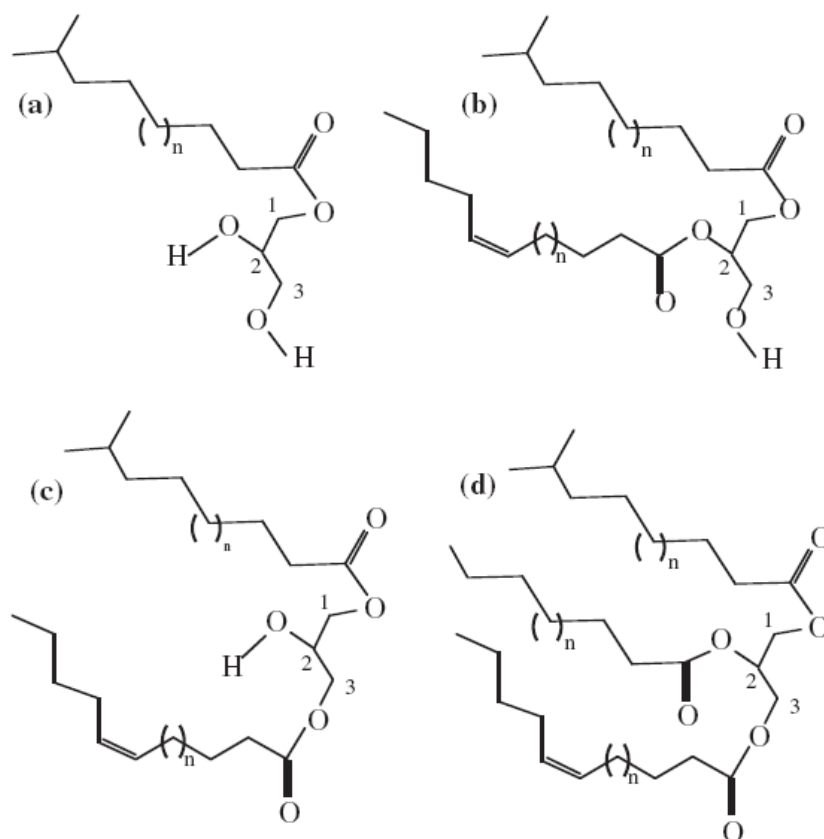


Figura 2 - Estrutura esquematizada das classes de acilgliceróis: (a) monoacilglicerol; (b) 1,2 diacilglicerol; (c) 1,3 diacilglicerol e (d) 1,2,3, triacilglicerol

Álcoois graxos ocorrem naturalmente na forma livre (componente de lipídios cuticulares), geralmente esterificado (ésteres de cera) ou na forma eterificada (éteres de glicerila). Eles são caracterizados pela longa cadeia de átomos de carbono (C10 – C44) na forma normal, ramificada, saturada, insaturada e a função álcool no carbono secundário ou terciário (Figura 3). Alguns álcoois cíclicos são encontrados em plantas.

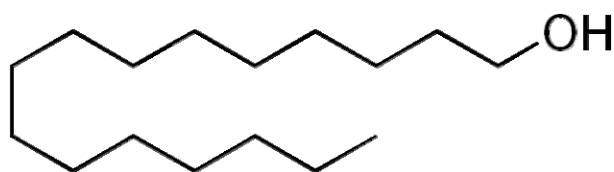


Figura 3 - Estrutura esquematizada do álcool cetílico

Vários álcoois graxos são encontrados na forma de cera nas folhas de plantas e em frutos. Entre eles, o octacosanol (C28) é o frequentemente citado. Policossanol é uma mistura natural de álcoois alifáticos primários superiores isolados e purificados a partir da cera de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*, L.), cujo principal componente é o octacosanol (C28), seguido pelo hexacosanol (C26) e triacontanol (C30). Esta mistura foi estudada e possui efeito redutor de colesterol em coelhos (ARRUZABALA *et al*, 1994).

Microcápsulas lipofílicas de indometacina foram preparadas utilizando álcool cetosteárilico, álcool estearílico e álcool cetílico em várias proporções de droga/lipídios. Foram estudadas as taxas de liberação de ativo e propostas equações matemáticas para estas (KARASULU *et al*, 2003).

4.1.3.1.1 Cristalização

Os óleos e as gorduras vegetais e animais, possuem várias espécies moleculares com diferentes propriedades químicas e físicas. O comportamento de um triacilglicerol (TAG) e dos ácidos graxos (AG), tais como taxa de cristalização, tamanhos de cristal e sua rede, morfologia do cristal e cristalinidade, estão diretamente influenciados pelo polimorfismo, o qual é influenciado pela própria estrutura molecular e por vários fatores externos, tais como temperatura, pressão, solvente, impurezas, taxa de cristalização, etc (SATO, 2001).

As propriedades físicas dos óleos são influenciadas não apenas pelo comprimento e número de duplas ligações dos AGs, mas também pela distribuição dos AGs nas posições dos TAGs. Uma vez que os AGs contribuem com cerca de 95% do peso total da molécula do TAG e por serem a porção reativa da molécula, estes influenciam significativamente as características dos glicerídeos. Deste modo, a constituição química dos óleos e gorduras é basicamente de AG e suas características físicas estão relacionadas aos TAGs formados (DANIELS *et al*, 2006).

Os sistemas dos TAGs podem ser muito simples, tais como sistema de TAG puro onde os AGs que constituem a cadeia são idênticos e saturados (tipo PPP) ou muito complexos, naturalmente derivados de gorduras contendo vários TAGs com

combinações ilimitadas dos ácidos graxos. O comportamento dos TAGs está relacionado pela estrutura molecular destes no sistema (mistura dos ácidos graxos) e como eles são capazes de empacotarem-se juntos em cristais nas várias formas polimórficas disponíveis. Os diferentes ácidos graxos num TAG, com diferentes tamanhos de cadeias e graus de saturação, resultam em incompatibilidade e promovem imiscibilidade no estado sólido.

O processo de cristalização é dividido em duas fases: nucleação e crescimento do cristal. A nucleação é provavelmente o fator mais importante no controle da cristalização. Cristal é uma estrutura construída a partir de um padrão tridimensional simples de átomos, íons ou moléculas, repetido constantemente. Trata-se de uma agregação empacotada de átomos ou moléculas, mantidos fortemente unidos por forças interatômicas ou intermoleculares, em um padrão geométrico altamente ordenado, com espaçamentos definidos (GIOIELLI, 1998).

A taxa de nucleação é o maior fator determinante em número e tamanho de cristais formados, forma polimórfica e a distribuição final do sólido cristalino. A cristalização não pode ocorrer até que a fase é supersaturada ou sub-resfriada (MARANGONI, 2005a). O processo de nucleação requer que as moléculas se organizem em um núcleo cristalino, onde existe uma barreira de energia oposta a esta transição e quando a nucleação ocorre, há liberação de energia (calor latente de fusão) e as moléculas assumem um estado de baixa energia. Após este tamanho crítico, um núcleo estável é formado e continua a crescer (METIN *et al*, 2005).

Himawan *et al* (2006) escreveram uma revisão sobre aspectos termodinâmicos e cinéticos de cristalização de gorduras. Descrevem fases complexas de equilíbrios de gorduras utilizando relações fundamentais em sistemas únicos, binários e terciários, relacionando nucleação, taxa de crescimento, tipos polimórficos e morfologia do cristal.

Humphrey e Narine (2004) avaliaram a cristalização e entalpia de fusão de 24 de sistemas de *shortening* contendo gorduras totalmente hidrogenadas diluídas a 10-25% (p/p) em óleo de soja.

Shi *et al* (2005) estudaram misturas de sistemas lipídicos contendo classes de lipídios de alto (C16 a C18) e baixo ponto de fusão (C10). Estas misturas foram

cristalizadas e foram obtidas imagens por microscopia para análises de morfologia do cristal e microestrutura. O desenvolvimento de estruturas cristalinas foi relacionado com os atributos texturais do sistema lipídico semi-sólido.

4.1.3.1.2 Polimorfismo

Compostos de cadeia longa, tais como ácidos graxos e seus ésteres podem apresentar diferentes formas cristalinas, denominadas polimorfismo. O polimorfismo é a capacidade da molécula formar mais de uma forma cristalina dependendo do arranjo do núcleo do cristal. Estas formas polimórficas podem ser identificadas por padrões de difração de raios-X, onde os espaçamentos longos dão informações sobre a distância entre os cristais planos (comprimento de cadeia) e os espaçamentos curtos dão informações sobre a estrutura da sub-célula (distância entre cadeias).

Em geral, TAG com três ácidos graxos saturados apresentam empacotamento duplo de cadeias, enquanto que o empacotamento triplo de cadeia (Figura 4a) é obtido de TAG com diferentes tamanhos de cadeia e insaturação (METIN *et al*, 2005).

As diferenças entre os polimorfos são mais visíveis a partir de uma visão destes planos, a qual mostra a estrutura sub-celular (Figura 4b).

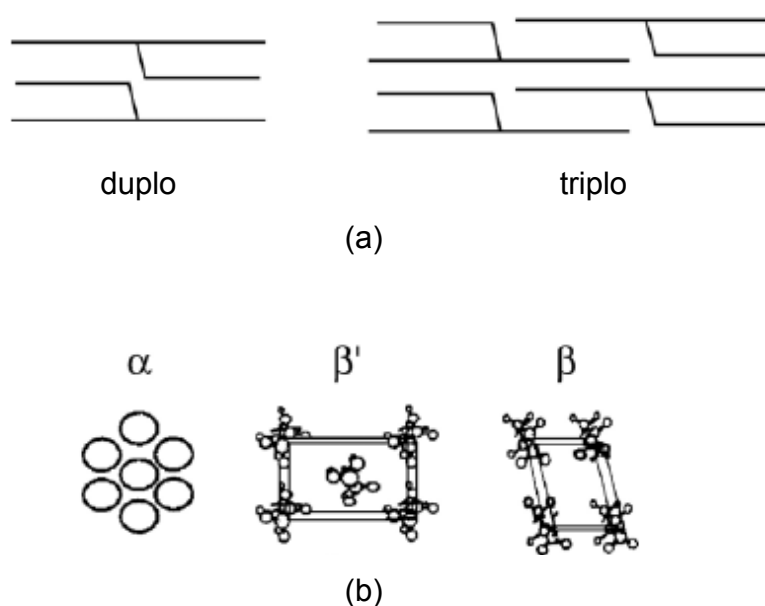


Figura 4 - Tipos de empacotamento de cadeias (a) e estruturas das subcélulas das três formas mais comuns de polimorfismos em triacilgliceróis (b)

As moléculas de TAG são capazes de empacotar em diferentes arranjos cristalinos ou polimórficos, os quais exibem diferentes temperaturas de fusão. As formas polimórficas das gorduras são muitas vezes simplesmente classificadas em três categorias α , β' e β . A forma α é a menos estável com menor ponto de fusão e calor latente. A forma β é a mais estável com maior ponto de fusão e maior calor latente. As transformações de α , para β' e desta para β ocorrem nesta ordem e são irreversíveis, exceto por fusão ou recristalização. Com relação ao empacotamento da cadeia, a forma α é hexagonal, a β é ortorrômbica e a β' é triclínica (TIMMS, 1985; O'BRIEN, 1998; MARANGONI, 2002). Porém, algumas gorduras exibem mais formas polimórficas do que as citadas acima, como por exemplo, a manteiga de cacau, que apresenta seis formas cristalinas (LOISEL *et al*, 1998).

Cada polimorfo é constituído de um composto comum, mas compõe uma fase separada. Apenas um polimorfo é termodinamicamente estável a uma temperatura e pressão específica. Logo, todos os outros polimorfos são potencialmente capazes de serem transformados em polimorfos estáveis. Algumas transformações são rápidas e reversíveis, outras não.

Em algumas misturas de triacilgliceróis, a forma β não está presente e a β' é a mais estável ou duas formas de β estão presentes. A cristalização polimórfica é primariamente determinada pela taxa de nucleação, sendo governada pela termodinâmica e fatores cinéticos (SATO, 2001).

4.1.4 Tensoativos

Tensoativos são moléculas que possuem uma cadeia longa com um grupo lipofílico e outro hidrofílico. São utilizados na preparação de emulsões para aumentar a estabilidade por ação interfacial e são conhecidos como emulsificantes. A composição química dos emulsificantes apresenta em comum uma estrutura polar (solúvel em água) e apolar (insolúvel em água), com balanço hidrofílico/lipofílico (HLB). O método HLB determina este carácter hidrofílico/lipofílico da molécula e é atribuído para cada emulsificante. É necessário distinguir claramente as duas fases de uma emulsão. A fase

na qual está presente a forma de partículas divididas finamente é chamada de dispersa ou fase interna. A fase que forma a matriz na quais as partículas estão suspensas é chamada de contínua ou fase externa. A Tabela 1 mostra as faixas de HLB requerido para vários sistemas (BECHER, 1957). As substâncias com HLB de 4-6 são mais apropriadas para emulsões de água dispersa em óleo (A/O), enquanto que as com HLB de 8-18 são mais apropriadas para emulsões óleo disperso em água (O/A).

Tabela 1 - Faixas de HLB e aplicações

Faixa de HLB	Aplicação
3 – 6	Emulsificantes sistema água/óleo
7 – 9	Agente umectante
8 – 18	Emulsificante sistemas óleo/água
13 – 15	Detergentes
15 – 18	Solubilizantes

Estas duas interações, hidrofóbica e hidrofílica, competem para dar duas forças opostas agindo na região interfacial. Uma tende a decrescer e a outra a aumentar a área interfacial por molécula. A interação surge principalmente da atração hidrofílica ou forças de tensão interfacial agindo no hidrocarboneto e na interface da água. A aproximação da molécula do emulsionante na interface O/A, interação destas moléculas e a estabilização interfacial formam um filme proporcionando a formação e estabilização da emulsão. Tudo está relacionado com a composição do emulsionante, concentração, viscosidade, tensão interfacial, interações entre os grupos polares do emulsionante por atração hidrofílica e entre o grupo hidrofóbico do emulsionante com as moléculas de óleo (VILLAMAGNA *et al*, 1995). Os emulsificantes podem influenciar a cristalização de gorduras, alterando as características polimórficas e influenciando a cinética da cristalização, como agentes promotores da cristalização com o objetivo de acelerar a nucleação (GARDOLINO *et al*, 2005).

É conhecido que a lecitina hidrofóbica com conteúdo reduzido de fosfatidilcolina (PC) pode atuar como emulsificante em sistemas A/O (JOHANSSON *et al*, 1995) e que

estes sistemas também têm potencial de perfil de liberação prolongado para componentes hidrofílicos (BJERREGAARD *et al*, 2001). A lecitina é considerada como GRAS (geralmente reconhecida como segura) e permitida em alimentos como aditivo com restrições sobre as quantidades utilizadas (KLEIN, 2008). Lecitina é extraída da soja e do ovo. A lecitina de soja é uma complexa mistura de fosfolipídios (aprox. 51%), lipídios naturais, ácidos graxos livres (38%) glicolipídios (aprox. 7%), carboidratos (aprox. 3%) e 1% de água. Lecitina de soja comercial contém 18% fosfatidilcolina (PC), 15% fosfatidil etanolamina (PE), 11% fosfatidil inositol (PI), 9% lipídios polares e 12% esteróis glicosídeos (GARTI e YANO, 2001; NII *et al*, 2004). A lecitina de soja comercial nacional apresenta a seguinte composição: 1% de água, 37% de triacilglicerídeos e 62% de insolúveis em acetona, onde 11% de glicolipídios, 5% de carboidratos, 2% fosfolipídios secundários, 5% ácido fosfatídico, 9% fosfatidil inositol (PI), 14% fosfatidil etanolamina (PE) e 16% fosfatidilcolina (PC) (KLEIN, 2008).

Na produção de micropartículas lipídicas, a composição química do emulsificante irá interferir no tamanho da partícula, na estabilidade e no perfil de liberação. É importante também para a estabilidade da emulsão que a cadeia lipofílica do emulsificante seja compatível com a fase lipídica a ser emulsionada, por exemplo, cadeias saturadas do emulsificante são miscíveis com gordura de cadeias saturadas.

4.1.5 Recheios

Os materiais de recheios podem ser sólidos, líquidos ou gasosos (JACKSON e LEE, 1991). É ampla a variedade de ingredientes alimentícios que podem ser encapsulados, como: agentes de sabor (óleos, especiarias, condimentos e adoçantes), ácidos, álcalis, tampões, lipídios, agentes redox (branqueador, maturação), enzimas ou microorganismos, antioxidantes, conservantes, corantes, vitaminas e minerais. A maior aplicação de microencapsulados em alimentos é para mascarar odor ou sabor (GIBBS *et al*, 1999). Ácidos adípico, fumárico, cítrico, láctico e ascórbico podem ser encapsulados. Ácido ascórbico é adicionado ao pão para melhorar a qualidade, entre eles, laterais mais fortes, cor de crosta uniforme e melhor corte. A forma encapsulada

protege este ácido do ambiente, liberando-o durante o cozimento, quando ele é mais necessário (DZIEZAK, 1988).

4.1.5.1 Liberação do recheio

Existem três possíveis perfis de liberação de recheios de microcápsulas: (i) quando o recheio encontra-se na superfície externa da matriz, a liberação é rápida, efeito tipo *burst*; (ii) quando o recheio estiver espalhado por toda a extensão da matriz, a liberação é lenta e progressiva; (iii) quando o recheio encontra-se no interior da matriz, a liberação é muito lenta. O perfil de liberação pode ser influenciado pelas modificações nas matrizes lipídicas, concentração de tensoativo e parâmetros de produção (WISSING *et al*, 2004).

Os mecanismos de controle de liberação são classificados em alimentos por: difusão, barreira, pressão, solvente, osmótico, pH, temperatura, fusão e sistemas combinados (POTHAKAMURY *et al*, 1995).

4.1.6 Nanopartículas lipídicas

Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) foram produzidas em 1991 como um sistema alternativo de matriz para os sistemas coloidais tradicionais, tais como emulsões, lipossomas, micro e nanopartículas poliméricas. SLN apresentam diâmetro entre aproximadamente 50 a 1000 nm. O uso de lipídios sólidos como materiais de parede é bem conhecido em medicamentos via oral na área farmacêutica, bem como em micropartículas lipídicas obtidas pelo processo de *spray congealing* (ELDEN *et al*, 1991a). Estas SLN podem ser produzidas por homogeneização a alta pressão. Dois métodos básicos de produção de SLN são as técnicas de homogeneização a quente e a frio (LIEDTKE *et al*, 2000). Nestas técnicas, o recheio é misturado ao lipídio fundido a aproximadamente 5 °C – 10 °C acima do seu ponto de fusão. Para homogeneização a quente, o recheio é disperso à mesma temperatura da matriz. A pré-emulsão é homogeneizada no homogeneizador de pistão e a nanoemulsão é resfriada a temperatura ambiente. Para a técnica a frio, o lipídio fundido contendo o recheio é

resfriado e disperso na solução a frio do emulsificante. Então, a pré-dispersão é homogeneizada a frio. Cada ciclo de homogeneização pode acusar um aumento de 10 °C a 20 °C na temperatura, necessitando-se refrigeração durante o processo (MÜLLER *et al*, 2000).

Os fatores que determinam à capacidade da liberação do recheio são: solubilidade do recheio no lipídio fundido, miscibilidade do recheio fundido no lipídio fundido, estrutura química e física da matriz lipídica sólida e estado polimórfico do material lipídico. Devido a algumas limitações do sistema SLN como: capacidade limitada de encapsulação, expulsão do recheio durante o armazenamento e alta quantidade de água para dispersão (MÜLLER *et al*, 2002b) foram realizados novos desenvolvimentos de nanopartículas lipídicas denominadas carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC). Estes são produzidos por misturas de lipídios sólidos com lipídios líquidos espacialmente incompatíveis, proporcionando uma estrutura especial na matriz. Quanto maior a incompatibilidade dos lipídios, em relação ao tamanho de cadeia e à insaturação dos ácidos graxos que constituem os acilglicerídios, melhor o desempenho de encapsulação e as propriedades de liberação do recheio, devido às imperfeições do cristal formado. Foram desenvolvidos três tipos de NLC: I – Mistura de lipídios sólidos e pequena quantidade de lipídios líquidos, somente para aumentar a imperfeição da parede lipídica; II – Mistura com maior quantidade de lipídios líquidos, promovendo uma maior solubilidade do recheio e proporcionando uma maior encapsulação e maior tempo de liberação do recheio; III – Misturas especiais de lipídios, onde uma matriz sólida de nanopartícula lipídica contém minúsculos nanocompartimentos de óleo, evitando a cristalização dos lipídios após o resfriamento (MÜLLER *et al*, 2002b; WISSING *et al*, 2004).

Foram também desenvolvidas as nanopartículas conjugadas (LCD) que podem encapsular mais de 33% de recheio (OLBRICH, 2000). Recheio e lipídios insolúveis são preparados pela formação de sal (com ácido graxo) ou ligação covalente (ésteres ou éteres). No processo de formação de sal, o recheio livre e ácido graxo são dissolvidos em um solvente apropriado. O solvente é evaporado sob baixa pressão. Para ligação covalente, o recheio e o álcool graxo reagem na presença do catalisador e as LCD são purificadas por recristalização. São então processadas com solução de surfactante para

a formação de nanopartículas utilizando homogeneização de alta pressão (WISSING *et al*, 2004).

4.1.7 Técnicas analíticas aplicadas a lipídios

Para caracterização de lipídios além das técnicas rotineiras de ponto de fusão, composições de ácidos graxos e triacilglicerólica, são utilizadas as técnicas de calorimetria de varredura diferencial (DSC) e ressonância magnética nuclear (RMN). Estas técnicas estudam os fenômenos de fusão e cristalização que acompanham o conteúdo de gordura sólida e são definidas pelo comportamento polimórfico do lipídio.

4.1.7.1 Ponto de fusão

O ponto de fusão é usualmente definido como a temperatura em que um material muda do estado sólido para o líquido. Contudo, as gorduras não possuem um ponto de fusão claramente definido como as substâncias puras, pois são formadas por misturas complexas de triacilgliceróis, que se fundem gradualmente, de acordo com o ponto de fusão individual até a forma totalmente líquida. As gorduras apresentam faixas ou intervalos de fusão. O ponto de fusão é um parâmetro de importância significativa para caracterização e desenvolvimento de gorduras (RIBEIRO *et al*, 2009b).

Karabulut *et al* (2004) estudaram o efeito da interesterificação química nas propriedades físicas de estearina de palma totalmente hidrogenada, estearina de palma, óleo de canola e óleo de algodão misturados em várias proporções (p/p) e o seu uso como base gordurosa para a produção de margarinas e *shortenings* livres de isômeros *trans*. Observou-se que as amostras interesterificadas apresentaram ponto de fusão e conteúdo de gordura sólida (SFC) menores que suas correspondentes misturas, devido à formação de novas moléculas de TAG.

4.1.7.2 Composição em ácidos graxos e triacilglicerólica

Pela composição em ácidos graxos por cromatografia gasosa podem-se determinar as concentrações de ácidos graxos pelo tamanho de cadeia e suas insaturações. O número de duplas ligações e o tamanho da cadeia de ácidos graxos (AGs) que constituem a molécula de um triacilglicerol (TAG) modificam as propriedades físico-químicas deste. Haverá um aumento progressivo no ponto de fusão do AG, quanto menor a quantidade de duplas ligações e com o aumento no tamanho de cadeia (MISKANDAR *et al*, 2005).

Humphrey e Narine (2004) estudaram a cristalização e fusão de misturas de gorduras totalmente hidrogenadas em óleo de soja. Foram determinadas as composições de AG e TAG. A cristalização de um lipídio está relacionada com suas moléculas, tamanhos, número de insaturações, a posição em que os AGs estão ligados à molécula de glicerol. Isto afeta a transferência de calor e massa, determinando o grau de cristalização das moléculas.

A distribuição dos AGs nos TAGs não é randômica. Em óleos e gorduras de origem vegetal, os AGs saturados estão sempre exclusivamente localizados nas posições *sn*-1 e *sn*-3 dos TAG e os ácidos graxos insaturados preferencialmente na posição *sn*-2.

Chiu *et al* (2008) caracterizaram por cromatografia gasosa a composição de TAG de uma mistura ternária de gordura de frango (1/3), estearina de gordura de frango (1/3) e triacilgliceróis de cadeia média (1/3), antes e depois da interesterificação química. Antes da reação de interesterificação houve dois grupos distintos de triacilgliceróis (de 22 a 30 e de 48 a 54 átomos de carbono). Após a reação, houve surgimento de novos grupos de triacilgliceróis (de 32 a 46 átomos de carbono), inexistentes nas amostras originais.

Óleos e gorduras são substâncias complexas devido ao grande número de TAG em suas composições. A identificação dos TAGs é um processo difícil, devido ao grande número de formas estruturais possíveis comparados ao número de AGs presentes.

Antoniosi Filho *et al* (1995 a, b) desenvolveu um programa baseado em equações matemáticas visando a previsão das porcentagens molares do TAG presentes em óleos vegetais, a partir da composição dos ácidos graxos das amostras de acordo com hipóteses 1,3-random-2- random.

4.1.7.3 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Calorimetria diferencial de varredura é uma das técnicas mais utilizadas para o estudo do comportamento térmico dos compostos. Esta técnica tem sido empregada com resultados satisfatórios na determinação da capacidade térmica em óleos vegetais e trigliceríceróis, na avaliação das temperaturas de fusão e cristalização.

Calorimetria diferencial de varredura (DSC) é um método bem estabelecido para estudar as transições de primeira e segunda ordem nos processos de transição de fase. Os resultados de medição por DSC fornecem informações sobre a temperatura crítica, bem como o sinal e a quantidade de calor latente envolvido na transição de fase (DADARLAT *et al*, 1996).

A avaliação de DSC fornece medidas diretas de energia envolvidas em processos de fusão e de cristalização de óleos e gorduras. A cristalização de óleos resulta em uma contração em volume associado com um efeito exotérmico. Pelo contrário, a fusão da gordura leva a uma expansão em volume caracterizado com um efeito endotérmico. A técnica de DSC também é utilizada para monitorar o grau de oxidação e a determinação quantitativa do total de componentes polares em óleos aquecidos (TAN e CHE MAN, 1999 a, b).

Kalinin *et al* (2002) investigaram as evoluções térmicas e estruturais associadas a cristalização de uma gordura de óleo de palma interesterificado através das técnicas de DSC e difração de raio-X. A combinação das duas técnicas permite a monitoração térmica do polimorfismo da gordura.

Quando uma gordura é aquecida pode exibir múltiplas fases de fusão e, a cada recristalização, o pico representa a transição de um polimórfico menos estável para um mais estável. O pico de temperatura de transição pode ser um indicador de forma

polimórfica de um cristal, assim a forma mais estável cristalina tem um ponto de fusão maior (ZEITOUN *et al*, 1993).

Vários parâmetros podem ser calculados para descrever o comportamento térmico de uma amostra de lipídio (CAMPOS, 2005; NARINE e MARANGONI, 2005):

- Picos de temperatura (máxima) de fusão e cristalização: correspondem à evolução máxima dos picos, ou seja, onde o efeito térmico é máximo. Eles são fortemente influenciados pelas taxas de cristalização e aquecimento utilizadas nas análises e referem-se às temperaturas em que a maioria das espécies lipídicas cristalizam ou fundem, dependendo da fase de transição em questão.

- Temperaturas iniciais de fusão e cristalização (*onset*): correspondem às temperaturas no ponto em que o fluxo de calor começa a desviar da linha base, que é o início da fase de transição. Quando ocorre mais de um pico, a temperatura calculada corresponde ao início do pico maior de cristalização, onde os primeiros cristais são formados, enquanto que a temperatura inicial de fusão é onde os primeiros cristais começam a fundir.

- Temperaturas finais de fusão e cristalização (*endset*): estas são as temperaturas em que as curvas retornam à linha de base, após a conclusão da fusão e cristalização.

- Áreas dos picos: correspondem às entalpias de cristalização (ΔH_c) e fusão (ΔH_f) e referem-se à fase de transição. A entalpia é calculada como a área sob a curva. As áreas sob as curvas são proporcionais às quantidades de materiais cristalinos formados durante a cristalização ou à quantidade de fase sólida convertidas para fase líquida durante a fusão. O valor para ΔH_f é fortemente relacionado com o arranjo intermolecular das espécies de triacilgliceróis e é geralmente modificado por randomização (RIBEIRO *et al*, 2009b).

As taxas de cristalização e fusão demonstram um efeito primordial no formato das curvas obtidas por DSC. A correlação entre a análise e a resposta é crítica em análise de óleos e gorduras (TIMMS, 2003). Durante a cristalização, taxas muito alta de resfriamento das moléculas de TAG usualmente cristalizam em formas polimórficas metaestáveis, as quais subsequentemente são transformadas em polimorfos mais

estáveis. Por outro lado, com taxas muito baixas de resfriamento, os TAG de tamanho de cadeias similares associam-se em um rearranjo geométrico mais estável, consequentemente em uma forma polimórfica mais estável. Assim, da mesma forma, os resultados dos termogramas de aquecimento são dependentes das taxas de aquecimento utilizadas.

Grimaldi *et al* (2001) avaliaram composições diferentes de óleo de palma e palmiste, antes e após o processo de interesterificação, através de curvas de fusão e cristalização determinadas por DSC. Esta técnica permitiu verificar que a reação de interesterificação, de forma geral, acarretou aumento na velocidade de cristalização das frações e promoveu melhor compatibilidade entre os óleos de palma e palmiste.

Afoakwa *et al* (2008) avaliaram, por análises térmicas (DSC), chocolates escuros processados com diferentes tamanhos de partículas e diferentes quantidades de gorduras e lecitina. Concluíram que variando os itens citados acima houve influência em diferentes níveis, com relação às propriedades de cristalinidade e fusão nos produtos finais. Diferentes tamanhos de partículas não afetaram a cristalinidade do produto. Com relação ao aumento de gordura, houve um aumento na cristalinidade, e com aumento de lecitina houve diminuição da cristalinidade nos produtos. Chocolates com partículas finas, altas concentrações de gorduras e baixa quantidade de lecitina suportam mais tempo as temperaturas elevadas até a fusão completa.

Nassu e Gonçalves (1999) estudaram o comportamento térmico de 14 amostras de óleos e gorduras refinadas ou modificadas por processos como hidrogenação, fracionamento e interesterificação, de diferentes origens vegetais. Através das curvas de fusão e cristalização obtidas, foram determinados parâmetros como temperaturas (fusão e cristalização, picos iniciais e finais) e entalpias de mudança de fase, encontrando-se valores e perfis característicos, de acordo com sua composição em AG.

JIN *et al* (2007) estudaram a cristalinidade da gordura de sebo bovino por análise térmica (DSC) e difração de raio-X. O termograma de fusão mostrou 3 pequenos picos entre 14 °C e 30 °C e por difração de raio-X os resultados demonstraram a forma β como sendo principal.

4.1.7.4 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectrometria de ressonância magnética nuclear é atualmente o método de escolha para a determinação do conteúdo de gordura sólida (SFC), o qual indica o percentual de gordura que se encontra no estado sólido a uma determinada temperatura (ALMEIDA, 2008).

Conteúdo de gordura sólida é um parâmetro que expressa a razão sólido/líquido de uma gordura em várias temperaturas (MARANGONI e ROUSSEAU, 1995).

O método baseia-se nas diferenças entre os decaimentos de energia das fases sólidas e líquidas de uma gordura sólida quando exposta a um intenso pulso de rádio frequência. A medida da intensidade de energia em vários pontos do decaimento permite a determinação de prótons presentes nas fases sólida e líquida. O método de ressonância magnética é mais preciso e rápido com relação às técnicas de dilatometria e análise térmica diferencial, apresentando resultados mais próximos ao teor absoluto de gordura sólida (CHIU, 2006).

Marangoni e Rousseau (1996) demonstraram que um SFC igual não necessariamente atribui a mesma propriedade macroscópica, tal como a dureza da gordura. Em seus estudos, observaram que, embora a natureza polimórfica e o SFC de gorduras interesterificadas e não interesterificadas eram sempre os mesmos, as propriedades reológicas eram muito diferentes. Estes resultados permitiram afirmar que as forças mecânicas da rede cristalina não são determinadas apenas pelo SFC, mas também pela sua microestrutura.

Os dados obtidos das curvas de SFC são usados para verificar o tipo de aplicação de gorduras. As frações líquido/sólido a várias temperaturas fornecem boas indicações do comportamento geral da gordura, informação utilizada em formulações e desenvolvimento de novos produtos.

O teor de gordura sólida também pode ser utilizado no estudo da compatibilidade de gorduras em diferentes sistemas. O resultado consiste em uma indicação gráfica, denominada diagrama de iso-sólidos, que representa, à temperatura constante, o

conteúdo de sólidos de várias composições gordurosas (NOOR LIDA *et al*, 2002; ROUSSEAU *et al*, 1996).

Os comportamentos de fusão e cristalização são influenciados pela interação dos triacilgliceróis.

Gioielli (1996a) citou 3 tipos de sistemas binários de glicerídios: (i) Soluções sólidas são formadas somente quando os triacilgliceróis são muito similares no ponto de fusão, volume molecular e forma polimórfica (TIMMS, 1984). (ii) Sistema eutético é o mais comum dos sistemas, ocorrendo a solubilidade incompleta dos triacilgliceróis no estado sólido que caracteriza um tipo de incompatibilidade, quando as gorduras diferem em volume molecular e forma polimórfica, promovendo uma diminuição no ponto de fusão (NOOR LIDA *et al*, 2002; GIOIELLI, 1996a). (iii) Sistema monotético ocorre quando triacilgliceróis de alto ponto de fusão são solubilizados em triacilgliceróis líquidos. Os componentes da mistura binária combinam-se formando compostos diferentes, sendo observado um aumento no ponto de fusão (TIMMS, 1984).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MATERIAL

Ácido esteárico comercial (Braido, SP); Ácido oléico comercial (Braido, SP); Óleo de soja totalmente hidrogenado (Triangulo, SP); Álcool Cetoestearílico (Oxiten, SP); Lecitina 68% (Solae, RS); D-Glicose anidra (Synth, SP); Kit Enzimático para determinação de glicose (Laborlab, SP); Tween 80 - Monooleato de sorbitan etoxilado (Synth, SP); Clorofórmio (F. Maia, SP);

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Métodos analíticos

5.2.1.1 Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, segundo a metodologia da *American Oil Chemists' Society*, método Ce 1-62 (1997). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram preparados conforme metodologia proposta por Hartmann e Lago (1973).

O equipamento utilizado foi um cromatógrafo gasoso (*Agilent 6850 Series- CG System*) com detector de ionização de chama (FID) e injetor com *split*. Os componentes foram separados em coluna capilar de sílica fundida LM-5 (L & M, polidifenildimetilsiloxano: comprimento, 30 m; diâmetro interno, 0,25 mm; espessura de filme, 30 μm). Foram injetadas amostras de 1,0 μL (taxa de *split* 1:50). As temperaturas do injetor e do detector foram de 320°C. Hélio foi usado como gás de arraste, com vazão de 1,1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A programação da temperatura do forno foi 180 °C por 5 minutos, rampa de 4 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ até 300 °C e 300 °C por mais 35 minutos, num total de 70 minutos. A identificação dos picos foi baseada nos tempos de retenção obtidos a partir de uma amostra de composição conhecida (óleo de mostarda), injetada nas mesmas

condições. Os valores de tempo de retenção foram usados para a construção de curvas de número de carbono equivalente, que auxiliam na identificação dos compostos das amostras. A integração por normalização de áreas foi realizada pelo software *Agilent GC Chemstation Plus*. As análises foram conduzidas em duplicata.

5.2.1.2 Composição em álcoois graxos

A composição em álcoois graxos foi determinada por cromatografia gasosa segundo Davy Process technology HY22712: NDA C8 to C18 product Alcohols Composition – Capillary GC utilizando um cromatógrafo Agilent Série 6890 com coluna 25 m x diâmetro interno de 0,32 mm, BPX-5, com espessura de fase de 0,5 micron. Método fornecido pelo fabricante OXITENO (2008).

A amostra foi dissolvida em ciclohexano e a determinação realizada nas seguintes condições: injetor: 300 °C; detector: 310 °C; gás de arraste: hélio; pressão do gás de arraste na entrada da coluna: 9,5 psi; vazão de hidrogênio (FID): 30 mL/min; vazão de ar (FID): 350 mL/min; *split*: 1:50; volume de injeção: 1 µL. A programação da temperatura do forno foi 130 °C por 3 minutos, rampa de 8 °C.min⁻¹ até 300 °C e 300 °C por mais 5 minutos, num total de 29 minutos

A concentração de cada componente foi determinada através da medição das áreas de pico corrigida pelos fatores de resposta determinados a partir de misturas padrão dos compostos puros preparadas anteriormente. As determinações foram realizadas em duplicata.

5.2.1.3 Composição em triacilgliceróis

A análise da composição em triacilgliceróis foi realizada em cromatógrafo gasoso capilar *CGC Agilent 6850 series GC system*, segundo a metodologia da *American Oil Chemists' Society*, método Ce 5b-89 (1997). Foi utilizada coluna capilar DB-17HT agilent catalog: 122-1811 (50%- fenil-metilpolisiloxano, com 15 metros de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno e contendo 0,15 µm de filme. As condições foram:

injeção *split* 1:30; temperatura da coluna: 250 °C, programada até 350 °C numa razão de 5 °C por minuto; gás de arraste: hélio, numa vazão de 1,0 mL/min; temperatura do injetor: 360 °C; temperatura do detector: 375 °C; volume injetado: 1,0 µL; concentração da amostra: 20mg/mL de tetrahidrofurano.

5.2.1.4 Composição em triacilgliceróis teórico

A identificação dos grupos de triacilgliceróis teórico foi realizada através da comparação dos tempos de retenção com padrões puros. Os cálculos foram realizados através da distribuição 1,3-random-2-random (Programa 1, 2, 3 óleos; ANTONIOSI, 1995b).

5.2.1.5 Ponto de fusão

O ponto de fusão das misturas de lipídios foi determinado pelo método do tubo capilar aberto, segundo a metodologia da *American Oil Chemists' Society*, método Cc 3 - 25 (1997). As amostras em triplicata foram acondicionadas em tubos em temperatura de 4 °C a 10 °C por 16 h e então imersas em banho de água sob agitação e aquecimento de 1 °C.min⁻¹.

5.2.1.6 Avaliação do comportamento térmico

Foram obtidas as curvas de fusão e cristalização das misturas lipídicas por calorimetria diferencial de varredura (DSC – *Differential Scanning Calorimetry*). O equipamento utilizado foi um calorímetro Perkin Elmer, modelo Diamond. As análises foram conduzidas com aproximadamente 10 mg de amostra em cápsulas herméticas de alumínio em atmosfera inerte (N₂), segundo a metodologia da *American Oil Chemists' Society*, método Cj 1-94 (1998). A amostra foi submetida ao seguinte programa de temperatura: temperatura ambiente aquecida a 90 °C a uma taxa de 10 °C/min e mantida por 10 minutos, resfriada a -40 °C a uma taxa de 10 °C/min, mantida 30

minutos e aquecida a 90 °C a uma taxa de 5 °C/min. A curva de fusão foi obtida no segundo aquecimento (amostra homogênea).

Os termogramas obtidos foram normalizados com base na massa das amostras. Através do *software* do equipamento, foram determinadas as temperaturas iniciais de fusão e cristalização (*Onset*), as temperaturas dos picos endotérmicos e exotérmicos (*Peak*), as temperaturas finais de fusão e cristalização (*Endset*), as áreas dos picos (mJ) e as entalpias de transição de fases ($\Delta H \text{ J.g}^{-1}$).

5.2.1.7 Determinação de viscosidade

Este método descreve a determinação da viscosidade em centipoise de ceras, gorduras e óleos, utilizando viscosímetro Brookfield LVT, dotado de adaptador para pequenas amostras e sistema o Thermosel para aquecimento da amostra, segundo a metodologia da *American Society for Testing and Materials*, método D 1986 (2002).

Foram colocados de 8 g ou aproximadamente 10 mL de amostra no termorecipiente previamente aquecido a 60 °C – 65 °C, dependendo da temperatura utilizada no tanque durante o processo de microencapsulação. Depois de fundida a amostra, foram aguardados 15 minutos e colocado o fuso (18 e 62 splinde e velocidade 60 rpm) até o local indicado na amostra. Foi ligado o aparelho na rotação mais baixa, até a temperatura atingir o equilíbrio. Após o equilíbrio ser alcançado, foi selecionada uma velocidade do fuso (RPM) de forma que a leitura percentual de escala esteja o mais próximo do meio da escala de 10 a 95, ou seja, que permaneça próximo de 50%. Foi mantida a rotação por 15 minutos e realizada a leitura. As determinações foram conduzidas em triplicata.

5.2.1.8 Determinação do teor de sólidos

A determinação foi realizada segundo a metodologia da *American Oil Chemists' Society*, método Cd 16b-93 (1999). O método determina a porcentagem de núcleos de hidrogênio (prótons) na amostra, em ambas as fases líquida e sólida. Foi utilizado o

método direto, sendo que as leituras em triplicata das misturas foram feitas em série nas temperaturas de 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 e 60 °C. O equipamento utilizado foi um espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Maran Ultra Benchtop, de 20 MHz.

5.2.1.9 Distribuição do tamanho de partícula

O tamanho das micropartículas foi determinado em microscópio ótico Jenaval – Zeiss (Alemanha Oriental) com captação de imagens por câmera digital, usando lente optovar de 1,25x e objetiva 12,5x/0,25 ∞ /-A. O software de aquisição de imagens é o Global LAB Image 2 e Scion Image (www.sciocorp.com). As amostras foram suspensas em glicerol e foram realizadas as medidas de diâmetro médio de 500 partículas para cada amostra.

5.2.1.10 Morfologia e microestrutura das partículas

A morfologia das partículas lipídicas foi observada por microscópio ótico Jenaval – Zeiss (Alemanha Oriental) com captação de imagens por câmera digital com lente optovar de 1,25x e objetiva 12,5x/0,25 ∞ /-A. O *software* de aquisição de imagens utilizado foi o Global LAB Image 2. As amostras foram suspensas em glicerol.

A microestrutura das micropartículas lipídicas foi observada em microscópio eletrônico de varredura Jeol JMS-T300 (Tokyo, Japan), com obtenção das imagens em aceleração de voltagem de 10kV e aumentos de 100x e 350x. As amostras foram fixadas em *stubs* de alumínio com uma fita de cobre dupla face e cobertas com uma fina camada de ouro com corrente a 40 mA por 180 segundos por meio de evaporador Baltzer (Baltec SCD50, Áustria).

5.2.1.11 Determinação de glicose

As quantidades de glicose presentes nas amostras foram determinadas pelo método enzimático, com leitura em um espectrofotômetro Beckman DU-70 (CA, EUA)

com comprimento de onda de 505 nm, segundo Henry *et al* (1974 e 1977). A concentração foi determinada através da equação de uma curva padrão, construída previamente utilizando o referido método com o Kit Enzimático comercializado pela Laborlab (SP) para determinação de glicose. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

5.2.1.12 Determinação da eficiência de encapsulação

5.2.1.12.1 Determinação da eficiência de encapsulação total (EET)

A eficiência de encapsulação total das microcápsulas foi determinada pesando-se 100 mg de amostra, adicionando 10 mL de clorofórmio e agitando em um super mixer Cole-Parmer por 10 segundos com pausa de 10 minutos, por duas vezes; logo, foram acrescentados 10 mL de água destilada e agitou-se novamente no super mixer por 1 minuto com pausa de 10 minutos, repetindo este passo por mais duas vezes. A seguir, os tubos foram colocados em uma centrífuga Sorvall Instruments RC-5C (EUA) por 10 minutos a 15.000 rpm, segundo a metodologia de Maschke *et al* (2007), com modificações de adição de clorofórmio e acrescentando várias agitações para proporcionar a quebra da emulsão. Em seguida, alíquotas foram retiradas da parte aquosa da mistura e foi determinada a concentração de glicose presente, segundo HENRY *et al* (1974 e 1977).

5.2.1.12.2 Determinação de glicose superficial (GS)

De acordo com o método reportado por Henry *et al* (1974 e 1977), foram pesados 100 mg de amostra em tubos de ensaio com tampa e adicionados 10 mL da solução de Tween 80 a 0,1%. Os tubos foram agitados em um agitador rotativo de tubos Phoenix AP-22 (São Paulo, Brasil) por 5 minutos, e o conteúdo foi filtrado em papel filtro. Nas alíquotas deste filtrado foi determinada a concentração de glicose.

5.2.1.12.3 Determinação da eficiência de encapsulação efetiva (EEE)

A eficiência de encapsulação efetiva foi calculada subtraindo a quantidade de glicose superficial (GS) da eficiência de encapsulação total (EET) por grama de amostra. O valor obtido foi comparado à quantidade inicialmente pesada para a produção das micropartículas. O quociente, expresso em porcentagem, representa o valor da eficiência de encapsulação efetiva, conforme equação abaixo.

$$EEE (\%) = \frac{EET - GS}{\text{g de glicose pesado}} \times 100$$

Onde:

EEE = Eficiência de encapsulação efetiva

EET = Eficiência de encapsulação total

GS = Glicose superficial

5.2.1.12.4 Determinação da curva de liberação do recheio

A porcentagem de recheio liberado foi determinada em duas horas, com análise nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos. Foram pesados 100 mg de amostra em tubos de ensaio com tampa e adicionados 10 mL de solução de Tween a 0,1%. Os tubos foram agitados em um agitador rotativo de tubos Phoenix AP-22 (São Paulo, Brasil) e, em cada intervalo de tempo, a solução foi filtrada em papel filtro e nas alíquotas destes filtrados foi determinada a quantidade de glicose presente, segundo Henry *et al* (1974 e 1977).

5.2.2 Procedimento Experimental

5.2.2.1 Misturas lipídicas estudadas e propriedades térmicas

Foram desenvolvidos três grupos distintos de misturas binárias combinando lipídios saturados (ácido esteárico, óleo de soja totalmente hidrogenado e álcool cetosteárico) com o lipídio insaturado (ácido oléico). As misturas estudadas para os 3 grupos foram: 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10 e 100/0 (Tabela 6). As misturas foram definidas com base nos perfis de fusão apropriados para a produção das micropartículas lipídicas pelo processo de *spray chilling* e no aspecto estável destas após a pulverização a temperatura ambiente.

Estas misturas foram avaliadas quanto ao ponto de fusão e comportamento térmico por calorimetria diferencial de varredura (DSC). Foi determinado o conteúdo de gordura sólida (SFC) e o diagrama de iso-sólidos das misturas selecionadas na Tabela 2.

5.2.2.2 Determinação das condições de preparação das emulsões

Foram selecionadas as misturas dos três grupos de acordo com a faixa de ponto de fusão, com aspecto e consistência, adequados à produção das micropartículas (Tabela 2). A partir das misturas lipídicas foram preparadas as emulsões água em óleo com a solução de glicose 40%, na proporção de lipídio/solução de glicose 75/25 e 5% de lecitina de soja como emulsificante (HLB = 4,0) p/p em relação à quantidade de lipídio total utilizada. Os parâmetros acima foram fixados conforme seleção do melhor resultado dos estudos propostos por Leonel (2008).

As emulsões foram preparadas como segue: foram pesados os lipídios e a lecitina de soja e aquecidos a 10°C acima do ponto de fusão da mistura lipídica, adicionando-se a solução de glicose e homogeneizando-se por 5 minutos a 10.000 rpm em Ultraturrax IKA T 18 Basic (Alemanha), mantendo o sistema em banho-maria na mesma temperatura.

A estabilidade das emulsões foi observada visualmente por 30 minutos em uma proveta, em banho-maria na mesma temperatura do sistema. As análises foram realizadas em triplicata. As emulsões estáveis foram consideradas como 100% e as que apresentaram separações foram denominadas 0% no tempo de observação. A escala de graduação da proveta foi utilizada para conversão em porcentagem de estabilidade.

5.2.3 Produção das micropartículas lipídicas (MpL) por *spray chilling*

Foram realizados testes prévios de produção das MpL com todas as misturas lipídicas e selecionadas as proporções das misturas de lipídios com maior ponto de fusão de cada grupo (Tabela 2), levando-se em conta a estabilidade das emulsões com relação ao aspecto e viscosidade para processamento, para que resultassem em micropartículas estáveis após a pulverização.

Tabela 2 – Composição das misturas lipídicas escolhidas para a produção de MpL* (%)

Misturas	Ácido Esteárico	Óleo de Soja Totalmente Hidrogenado	Álcool Cetoestearílico	Ácido Oléico
3	70	-	-	30
4	80	-	-	20
5	90	-	-	10
6 (AE)	100	-	-	-
8	-	60	-	40
9	-	70	-	30
10	-	80	-	20
16	-	-	80	20
17	-	-	90	10
18 (ACE)	-	-	100	-

* Misturas Lipídicas + Solução de glicose a 40% (75/25) + 5% Lecitina de soja

As micropartículas foram produzidas em um equipamento de *spray chilling* a nível laboratorial, conforme diagrama apresentado na Figura 5. A emulsão foi preparada conforme o item 4.2.2.3 (LEONEL, 2008), adicionada no tanque com aquecimento e mantida na mesma temperatura do sistema. A válvula foi aberta em uma vazão na faixa de 1,6 mL/min a 3,3 mL/min e a emulsão adicionada ao atomizador duplo fluido de diâmetro de 0,7 mm (Labmaq – SP, Brasil) com pressão de ar de 1,25 kgf/cm² (ar a temperatura ambiente), sendo atomizada em um recipiente de alumínio dentro de uma câmara resfriada a 0 °C (Ultratorac, LKB- Bromma, Alemanha).

As micropartículas lipídicas produzidas foram armazenadas em recipientes fechados a temperatura de 4 °C e caracterizadas pela morfologia, tamanho de partícula, determinação de glicose superficial, glicose total, eficiência de encapsulação efetiva e a curva da velocidade de liberação de recheio.

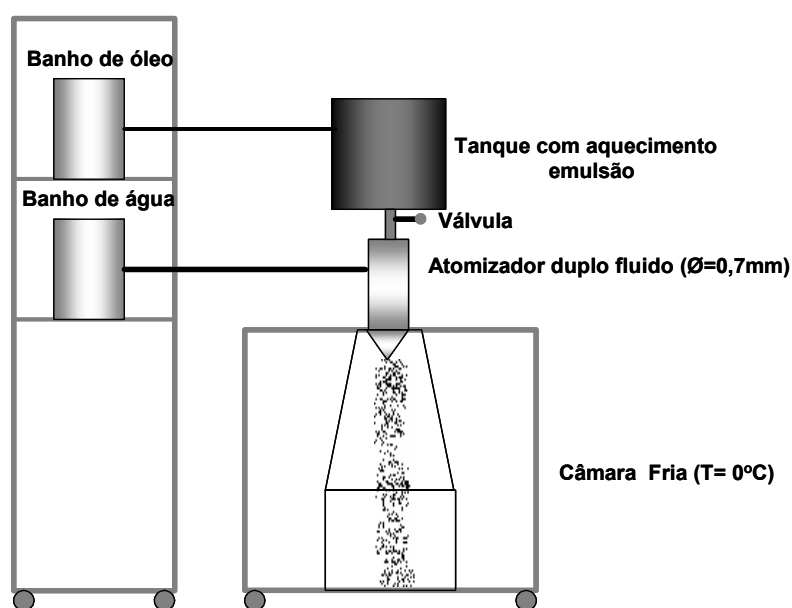


Figura 5 - Diagrama de produção das micropartículas

5.2.4 Análise estatística

Os resultados obtidos para eficiência de encapsulação efetiva e glicose superficial das micropartículas lipídicas, foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Aplicou-se o teste de Tukey, utilizando o programa Statistic a 7.0 (Statsoft, Tulsa, OK, USA). Foram consideradas significativas as diferenças entre as médias no intervalo de 95% de confiança ($p < 0,05$).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

A Tabela 3 apresenta a composição em ácidos graxos dos materiais lipídicos e seus pontos de fusão.

Tabela 3 - Composições em ácidos graxos (%) e pontos de fusão das matérias-primas.

Composição em ácidos graxos (%)*			
Composição	Ácido Esteárico Comercial	Ácido Oléico Comercial	Óleo de Soja Totalmente Hidrogenado
C14:0 mirístico	3,4 ± 0,0	3,5 ± 0,1	0,1 ± 0,0
C16:0 palmítico	30,2 ± 0,1	6,6 ± 0,0	11,6 ± 0,0
C16:1 palmitoléico	0,6 ± 0,0	5,5 ± 0,0	0,2 ± 0,0
C17:0 margárico	2,7 ± 0,0	3,1 ± 0,0	-
C18:0 esteárico	61,3 ± 0,1	2,9 ± 0,1	84,6 ± 0,1
C18:1 oléico	0,4 ± 0,0	68,9 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C18:2 linoléico	0,6 ± 0,0	6,8 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C18:3 linolênico	0,7 ± 0,0	1,2 ± 0,0	-
C20:0 araquídico	-	0,6 ± 0,1	1,3 ± 0,0
C20:1 gadoléico	-	0,7 ± 0,0	-
C22:0 behênico	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	1,4 ± 0,0
C24:0 lignocérico	-	-	0,6 ± 0,0
Σ Saturados (%)	97,4	16,8	99,6
Σ Insaturados (%)	2,6	83,2	0,4
Ponto de fusão (°C)**	59 ± 0,6	-	68 ± 0,5

*Composições em ácidos graxos análises em duplicata

**Pontos de fusão análises em triplicata

É importante ressaltar que os materiais lipídicos utilizados, ácido esteárico e ácido oléico são produtos comerciais e não compostos puros. A matéria-prima ácido esteárico comercial apresenta alto teor de ácido palmítico (30,2%), com total de saturados de 97,4%, aspecto sólido e com ponto de fusão de 59 °C. No ácido oléico comercial a proporção de saturados é de 16,8%, sendo o maior teor de ácido oléico com 68,9%, num total de ácidos graxos insaturados (AGI) de 83,2% e aspecto líquido à temperatura ambiente. O óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) apresenta apenas ácidos graxos saturados (AGS), com maior teor de ácido esteárico (84,6%), com elevado ponto de fusão (68 °C), valor similar ao apresentado por Wada (2007).

O objetivo de utilizar o ácido oléico como matéria-prima foi diminuir o ponto de fusão e acrescentar ácidos graxos insaturados para modificar a cristalização da mistura lipídica da matriz.

A Tabela 4 apresenta a composição triacilglicerólica do STH utilizado no projeto.

Tabela 4 - Composição de triacilgliceróis do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH)

Cadeia	TAG	STH (%)
C50	PPS	4,2
C52	PSS	30,8
C54	SSS	63,3
C56	SSA	1,7

P= palmítico; S= esteárico; A= araquídico

A matéria-prima STH é constituída apenas por ácidos graxos saturados, com predominância de 63,3% dos triacilgliceróis SSS (C54), seguido por 30,8% de PSS (C52), evidenciando o alto ponto de fusão. Humphery e Narine (2004) encontraram resultados similares em um total de 90% destes dois triacilgliceróis.

A Figura 6 apresenta a diferença da porcentagem em massa dos TAG quanto ao número de carbonos da análise cromatográfica em relação à análise teórica realizada pelo programa de computador.

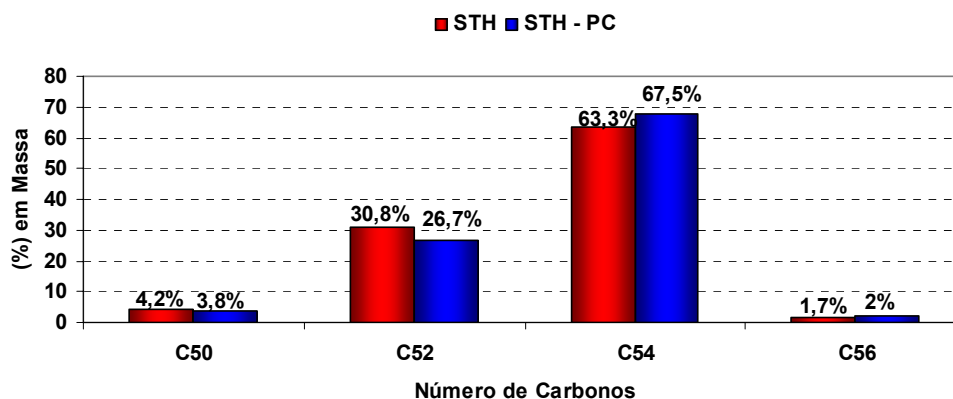


Figura 6 – Composição de triacilgliceróis do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) quanto ao número de carbonos das análises cromatográficas e do programa de computador

A composição, segundo número de átomos de carbono da cadeia dos TAGs foi obtida experimentalmente por cromatografia gasosa, porém na identificação e quantificação foi utilizado um programa computacional. O programa baseia-se em equações matemáticas que buscam prever a porcentagem molar dos TAGs presentes em óleos vegetais, a partir da composição de AGs destas amostras, que são a base da hipótese de distribuição 1,2,3 randômica (ANTONIOSI FILHO, 1995b).

A análise experimental por cromatografia comparada a análise teórica realizada pelo programa de computador apresentou resultados aproximados, com maior concentração em massa nas cadeias de C52 de 30,8% contra 26,7% e C54 de 63,3% contra 67,5% respectivamente. Portanto, o modelo teórico é um bom indicativo deste tipo de caracterização, principalmente quando não é possível realizar o método cromatográfico.

A Tabela 5 apresenta a composição em álcoois graxos e o ponto de fusão do álcool cetoestearílico (ACE) utilizado neste estudo. O álcool cetoestearílico comercial é uma mistura de álcoois estearílico e palmítico, na proporção de 66,9% e 32,5%,

respectivamente. O aspecto do produto é sólido e o ponto de fusão é inferior aos das demais matérias-primas sólidas utilizadas como matriz lipídica neste estudo.

Tabela 5 – Composição de álcoois graxos e ponto de fusão do álcool cetosteárilico (ACE)

Composição de álcoois graxos (%)*	
C14:0 mirístico	0,4 ± 0,0
C16:0 palmítico	32,5 ± 0,1
C18:0 esteárico	66,9 ± 0,1
C20:0 araquídico	0,2 ± 0,0
Ponto de fusão (°C)**	54 ± 0,5

*Composição em álcoois graxos análise em duplicata / **Ponto de fusão análise em triplicata

6.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MISTURAS LIPÍDICAS

6.2.1 Determinação dos pontos de fusão

Para preparar as misturas lipídicas, foram escolhidos 4 lipídios de composições diferentes: ácido esteárico (AE), óleo de soja totalmente hidrogenado (STH), álcool cetosteárilico (ACE) e ácido oléico (AO).

A Tabela 6 apresenta os resultados de ponto de fusão (método capilar) de cada grupo de misturas selecionado para o estudo nas proporções de 50/50 a 100/0, sendo a maior quantidade a do lipídio de maior ponto de fusão para obter microcápsulas com aspectos sólidos e estáveis à temperatura ambiente. As análises foram realizadas em triplicata.

Tabela 6 – Ponto de fusão das misturas das matérias primas lipídicas (%)

Misturas	Ácido Esteárico	Óleo de Soja Totalmente Hidrogenado	Álcool Cetoestearílico	Ácido Oléico	Ponto de fusão* (°C)
1	50	-	-	50	49,6 ± 0,6
2	60	-	-	40	52,0 ± 0,0
3	70	-	-	30	54,6 ± 0,6
4	80	-	-	20	56,6 ± 0,5
5	90	-	-	10	57,3 ± 0,7
6 (AE)	100	-	-	-	59,0 ± 0,5
7	-	50	-	50	61,3 ± 0,6
8	-	60	-	40	62,0 ± 0,0
9	-	70	-	30	63,6 ± 0,5
10	-	80	-	20	65,6 ± 0,7
11	-	90	-	10	66,6 ± 0,3
12 (STH)	-	100	-	-	68,0 ± 0,6
13	-	-	50	50	40,6 ± 0,6
14	-	-	60	40	42,0 ± 0,0
15	-	-	70	30	44,3 ± 0,5
16	-	-	80	20	47,6 ± 0,8
17	-	-	90	10	51,6 ± 0,5
18 (ACE)	-	-	100	-	54,0 ± 0,3

* Ponto de fusão análise em triplicata. Amostras 6, 12, e 18 sem adição do ácido oléico (AO).

O ponto de fusão variou conforme o comprimento e estrutura da cadeia carbônica das matérias-primas.

Conforme os dados obtidos na Tabela 6, o grupo que apresentou maiores pontos de fusão nas misturas realizadas com ácido oléico foi com o óleo de soja

totalmente hidrogenado (61,3 °C – 68 °C), seguido pelo ácido esteárico (49,6 °C – 59 °C) e álcool cetosteárico com menor ponto de fusão (40,6 °C – 54 °C).

6.2.2 Avaliação térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

6.2.2.1 Estudo das curvas de fusão e cristalização

Os eventos térmicos que geram transições de primeira ordem apresentam variação de entalpia que podem ser endotérmica ou exotérmica e dão origem à formação de picos (CANEVAROLO, 2004). A fusão de um lipídio é um evento endotérmico e a cristalização é um evento exotérmico.

Na Tabela 7 observa-se a redução na temperatura do **pico a** próximo a 10 °C na Mistura 1 em relação a Mistura 6, bem como a redução da entalpia de fusão. Conforme o aumento da quantidade de ácido oléico na mistura, a intensidade do **pico a** aumenta e diminui a do **pico b**. O ácido esteárico (AE) apresentou somente um pico de fusão pronunciado e de maior magnitude, isto pode ser explicado pelo teor de saturados (97,4%), compostos pelo ácido esteárico (C18), na maioria, e pelo ácido palmítico (C16), sendo o tamanho das cadeias bem próximo. O ácido oléico mostrou uma curva de fusão mais larga e um ombro próximo à temperatura *endset*. Pelo cromatograma, há 16,8% de saturados na composição desta matéria prima, os quais são evidenciados na curva de fusão deslocando-a para a direita no termograma.

Comparando as temperaturas de fusão das misturas pelo método capilar e os calculados por DSC, verifica-se que os resultados obtidos por DSC foram superiores, com diferenças entre 2,4 °C e 3,5 °C (média 2,9 °C), devido à técnica de DSC ser muito sensível e determinar a faixa de fusão do lipídio até completa fusão, isto é até estar totalmente líquido, denominada temperatura *endset* (NASSU e GONÇALVES, 1999).

Tabela 7 – Comportamento térmico (DSC) de fusão das misturas de ácido esteárico e ácido oléico.

Misturas*/ Picos	Temperatura onset (°C)	Temperatura de pico (°C)	Temperatura endset (°C)	ΔH Entalpia de fusão (J/g)	
1	a	-3,38	5,14	6,88	35,49
	b	33,76	46,96	53,13	76,27
2	a	-3,76	4,36	6,12	28,90
	b	35,73	49,65	55,32	97,55
3	a	-4,11	3,86	5,66	21,08
	b	38.59	52,41	57,30	112,35
4	a	-7,41	2,73	4,56	14,46
	b	41,40	54,54	59.00	131,08
5	a	-9,08	-0,41	2,47	5,93
	b	44,06	56,64	60,80	145,45
6(AE)	a	48,62	58,41	62,52	185,31
AO	a	-1,93	6,02	7,84	87,38

*Misturas - proporções de ácido esteárico e ácido oléico - Vide Tabela 6 - Resultados e Discussão

A adição do ácido oléico no ácido esteárico proporcionou o deslocamento das curvas de fusão para a esquerda como, demonstrado nos termogramas sobrepostos na Figura 7 para melhor observação dos eventos.

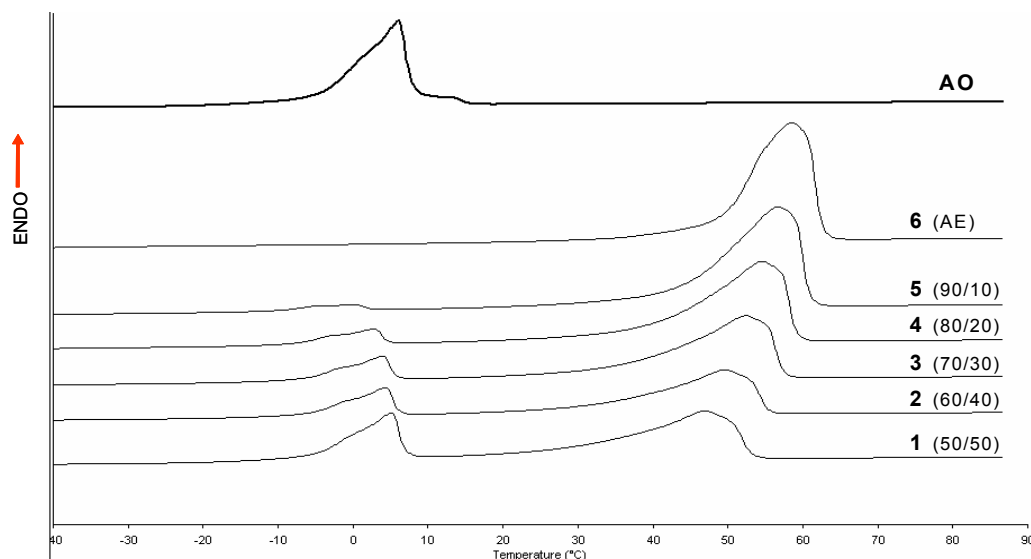


Figura 7 – Termogramas de fusão das misturas de ácido esteárico (AE) e ácido oléico (AO) (p/p)

A Tabela 8 mostra a redução da temperatura de cristalização quando adicionado ácido oléico ao ácido esteárico, ocasionando o deslocamento da curva de cristalização para a esquerda nos termogramas sobrepostos (Figura 8). O pico referente ao ácido esteárico (AE) é o de maior magnitude, indicando a predominância da cadeia C18 e a interação da cadeia C16. O tipo de curva e a faixa de cristalização estão relacionados com a composição do lipídio, o polimorfismo e sua história térmica (NASSU, 1994).

Quanto ao ácido oléico (AO) aparecem dois picos, um de maior magnitude próximo a -10°C e outro de menor próximo a 5°C . Relacionando o cromatograma com o termograma observa-se que a amostra é uma mistura, devido à presença de dois picos, um de menor intensidade, que provavelmente corresponde aos 16,8% de ácidos graxos saturados e outro pico de maior intensidade, estreito, correspondente aos 83,2% de ácidos graxos insaturados. Empregando uma taxa de resfriamento rápida, consegue-se identificar, através das quantidades de picos e tipos, se a amostra é pura ou uma mistura. O aumento de entalpia de fusão e cristalização é inversamente proporcional à quantidade de ácido oléico na mistura.

Tabela 8 – Comportamento térmico (DSC) de cristalização das misturas de ácido esteárico e ácido oléico

Misturas*/ Picos		Temperatura onset (°C)	Temperatura de pico (°C)	Temperatura endset (°C)	ΔH Entalpia de cristalização (J/g)
1	c	-13,21	10,95	-13,21	32,15
	d	42,90	40,71	36,23	86,06
2	c	-9,92	-11,24	-13,30	25,25
	d	46,30	44,34	40,71	98,15
3	c	-11,05	-12,62	-14,78	17,09
	d	48,41	46,42	40,59	119,23
4	c	-11,76	-15,88	-20,38	13,42
	d	50,90	48,82	41,74	139,22
5	c	-17,61	-20,56	-22,60	5,23
	d	53,02	50,70	42,62	161,52
6(AE)	d	55,04	51,87	45,56	167,58
AO	c	-9,74	-10,62	-12,76	73,97
	e	7,33	5,44	-0,08	9,79

*Misturas - proporções de ácido esteárico e ácido oléico - Vide Tabela 6 – Resultados e Discussão

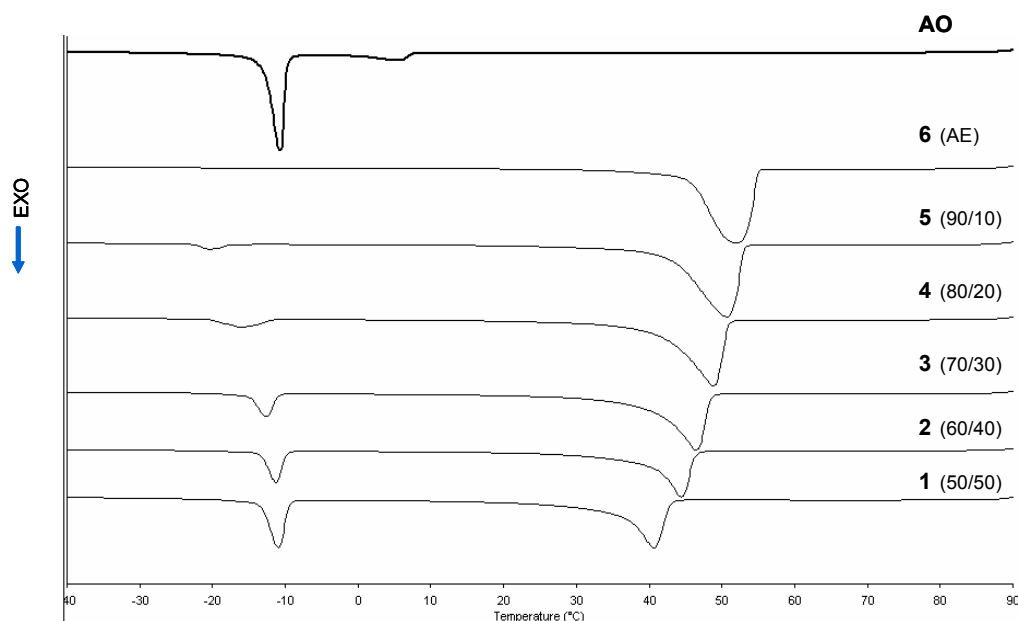


Figura 8 – Termogramas de cristalização das misturas de ácido esteárico (AE) e ácido oléico (AO) (p/p)

Nas Figuras 9 a 15 apresentam-se as curvas de fusão e cristalização de cada mistura de ácido esteárico e ácido oléico em diferentes proporções.

Nas Misturas 1, 2, 3, 4 e 5 foram observados 2 picos de fusão (**a** / **b**) e 2 picos de cristalização (**c** / **d**). Com o aumento do teor de ácido esteárico, o **pico b** foi deslocado para a direita e aumentou sua intensidade. As entalpias de fusão e de cristalização também aumentaram. Pode-se observar que o termograma do ácido esteárico (Figura 14) apresentou um único pico de fusão e outro de cristalização (97,4% de ácidos graxos saturados). Enquanto que o ácido oléico (Figura 15) apresentou uma curva de fusão larga e dois picos na cristalização. As entalpias de fusão e de cristalização aumentaram, conforme a redução do ácido oléico na mistura. Podem-se correlacionar os dois picos de cristalização do ácido oléico com a composição de ácidos graxos (Tabela 3), onde os 16,8% de ácidos graxos saturados correspondem ao pico próximo a 5,44 °C e os 83,2% de ácidos graxos insaturados ao pico próximo a -10,62 °C. As áreas dos picos de cristalização também apresentam valores proporcionais à composição em ácidos graxos.

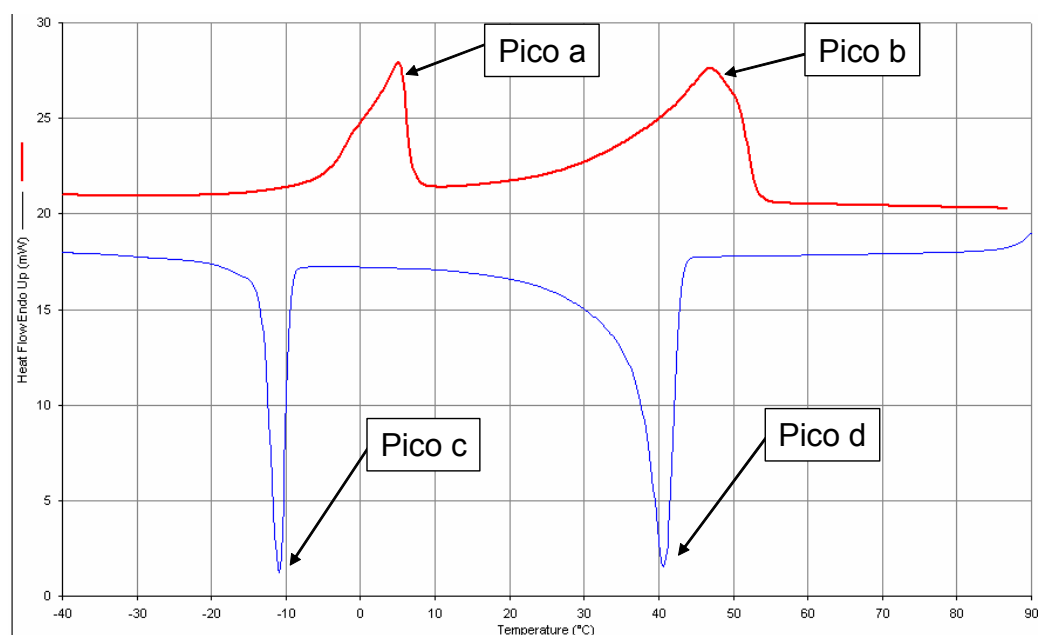


Figura 9 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 1 (ácido esteárico e ácido oléico – 50/50 - p/p)

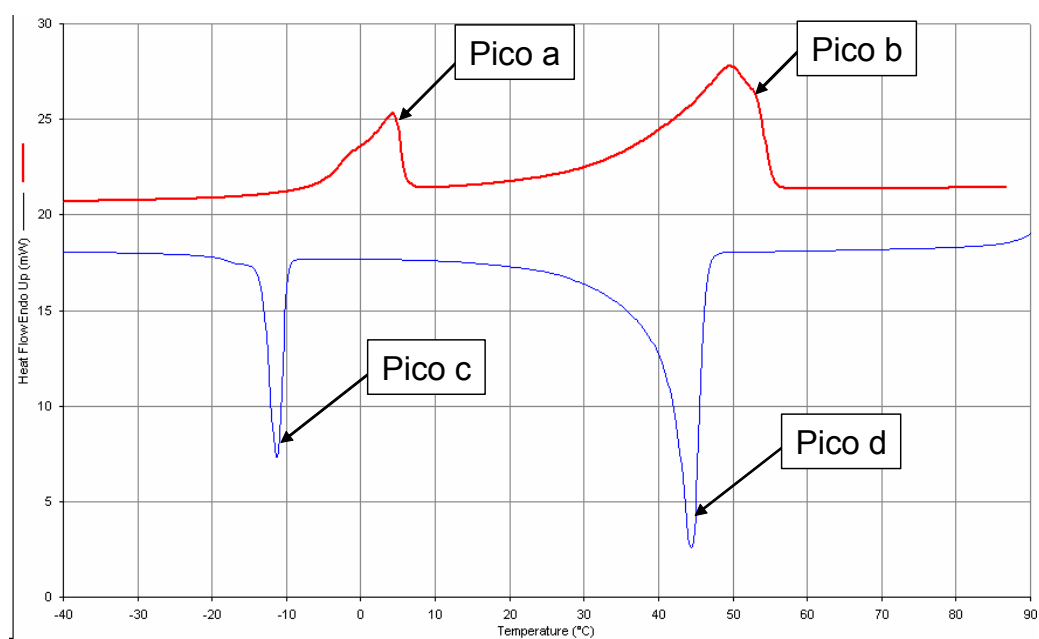


Figura 10 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 2 (ácido esteárico e ácido oléico – 60/40 - p/p)

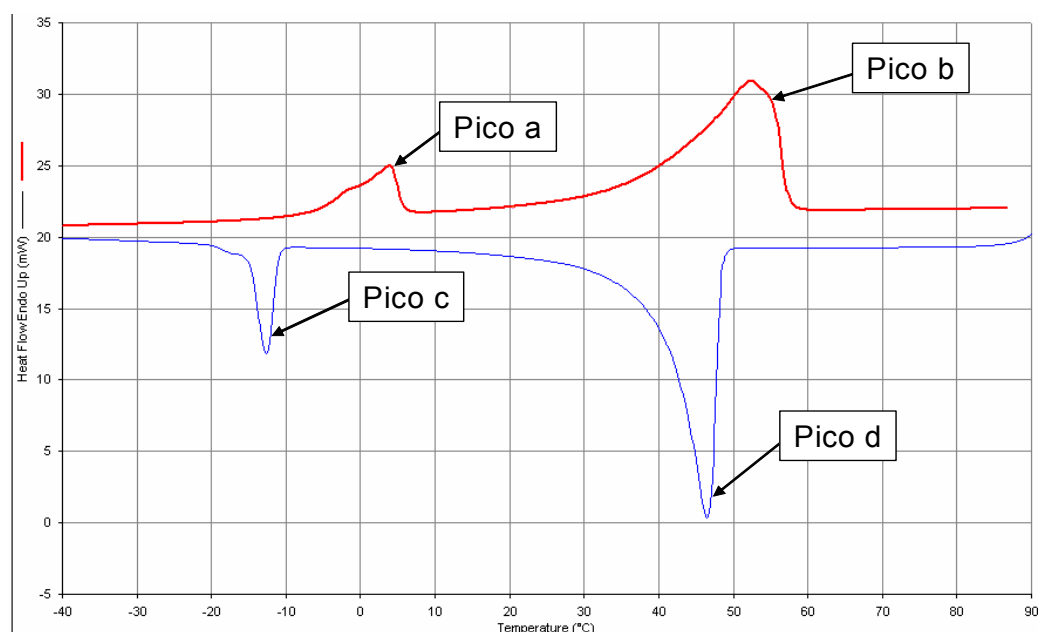


Figura 11 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 3 (ácido esteárico e ácido oléico – 70/30 – p/p)

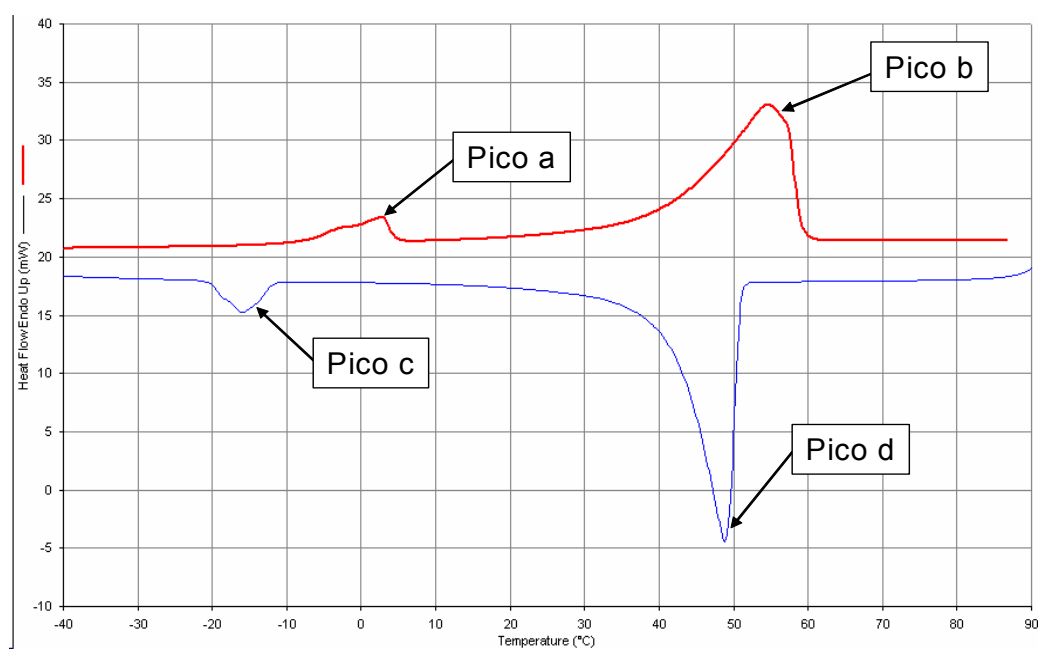


Figura 12 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 4 (ácido esteárico e ácido oléico – 80/20 – p/p)

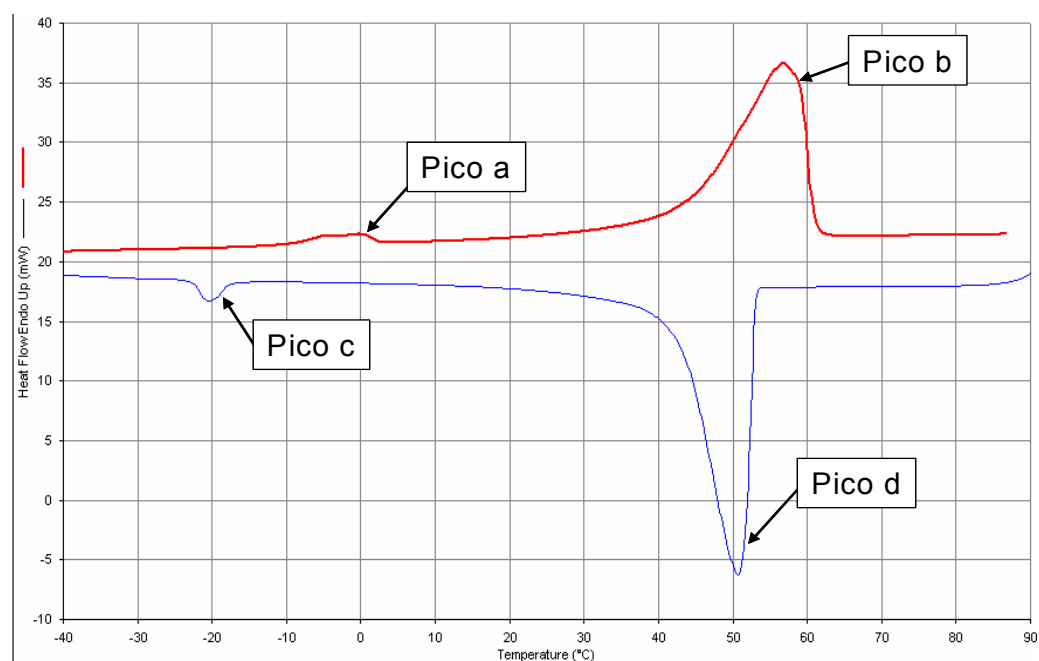


Figura 13 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 5 (ácido esteárico e ácido oléico – 90/10 - p/p)

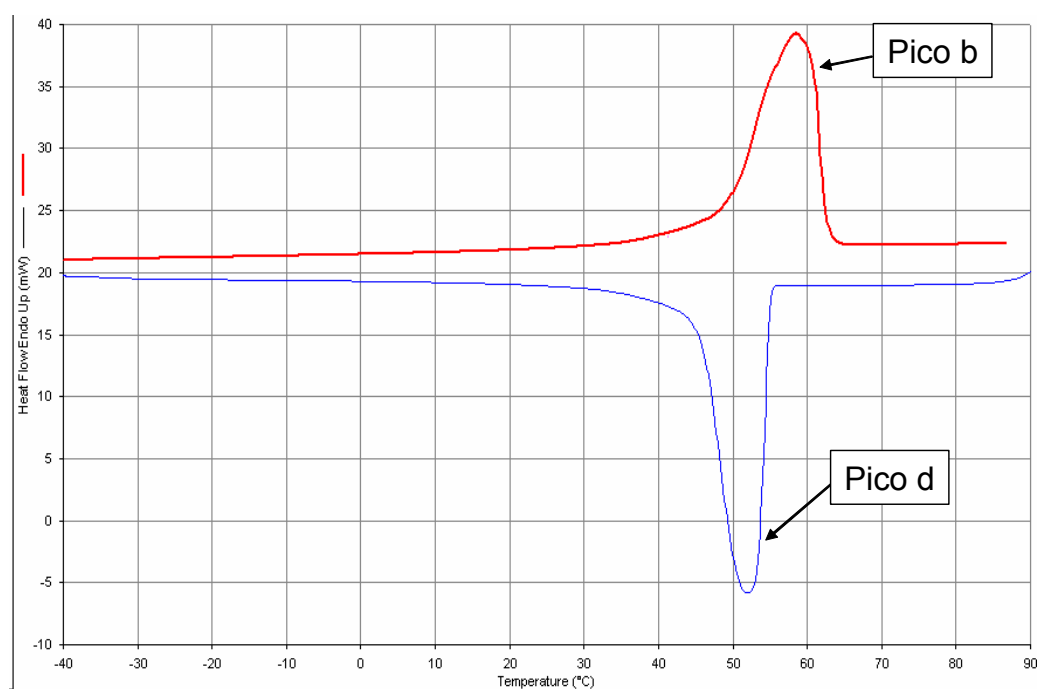


Figura 14 - Curvas de fusão e cristalização do ácido esteárico (AE)

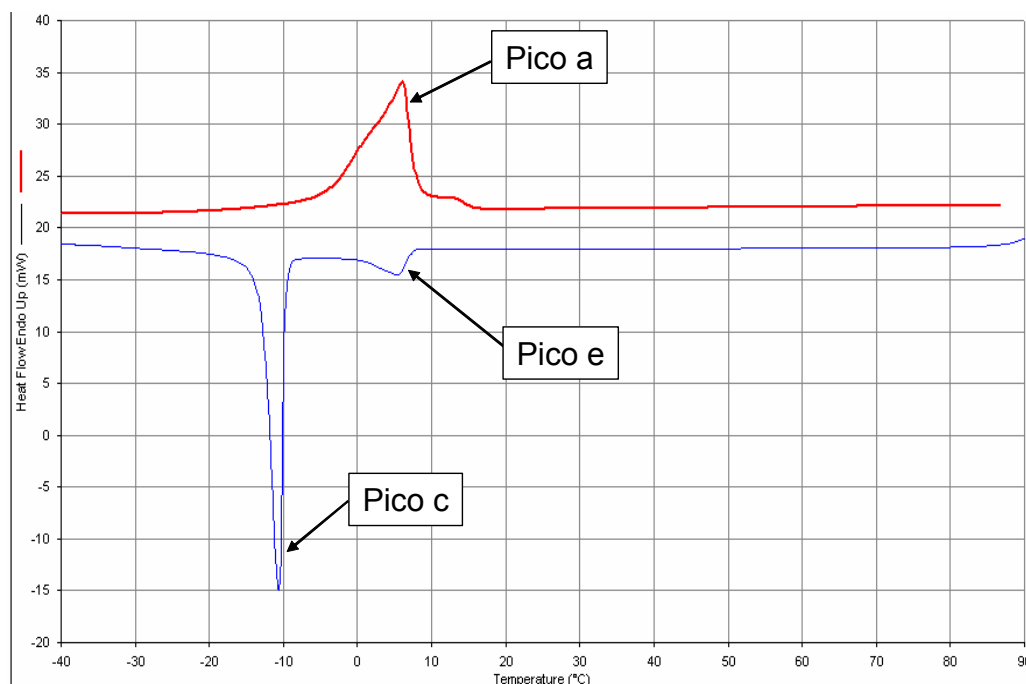


Figura 15 - Curvas de fusão e cristalização do ácido oléico (AO)

Pode-se observar na Tabela 9, que houve uma redução na temperatura de fusão com a adição do ácido oléico ao óleo de soja totalmente hidrogenado deslocando a curva de fusão para a esquerda no termograma. A Figura 16 mostra que houve interação nas Misturas 7, 8, 9 e 10, apresentando somente um pico ao redor de 60 °C, modificando a curva de fusão. O óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) apresenta dois picos, duas formas polimórficas. Um pico com maior magnitude a 54,32 °C e outro de menor magnitude a 60,97 °C. Considerando a temperatura final de fusão, o óleo de soja totalmente hidrogenado (Figura 23) apresentou o maior valor neste parâmetro, devido à sua elevada proporção de triacilgliceróis trisaturados. A Mistura 11 (90/10 - STH/AO) mostra uma curva maior de fusão iniciando a separação destas formas polimórficas e um efeito exotérmico que evidência uma recristalização (Figura 22). A concentração do AO nas misturas é proporcional à intensidade do **pico a**.

Comparando as temperaturas de fusão das misturas pelo método capilar versus DSC, verifica-se que os resultados obtidos por DSC foram superiores, com diferenças de 0,1 °C a 2,4 °C (média 1,4 °C).

Tabela 9 – Comportamento térmico (DSC) de fusão das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico

Misturas*/ Picos		Temperatura <i>onset</i> (°C)	Temperatura de pico (°C)	Temperatura <i>endset</i> (°C)	ΔH Entalpia de fusão (J/g)
7	a	-6,33	4,66	6,49	45,22
	b	50,76	60,39	62,56	100,13
8	a	-6,25	4,38	6,41	28,09
	b	52,50	61,90	63,81	113,92
9	a	-7,02	3,52	6,51	22,63
	b	53,89	63,89	65,98	143,54
10	a	-7,42	3,24	6,10	16,35
	b	55,85	64,93	66,97	156,68
11	a	-6,21	2,74	5,05	7,36
	b ₁	36,68	48,55	51,33	33,87
	b	53,65	60,62	67,19	22,60
12	b ₂	50,80	54,32	56,06	93,60
(STH)	b ₃	58,63	60,97	63,02	21,92
AO	a	-1,93	6,02	7,84	87,38

*Misturas - proporções de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico - Vide Tabela 6 - Resultados e Discussão

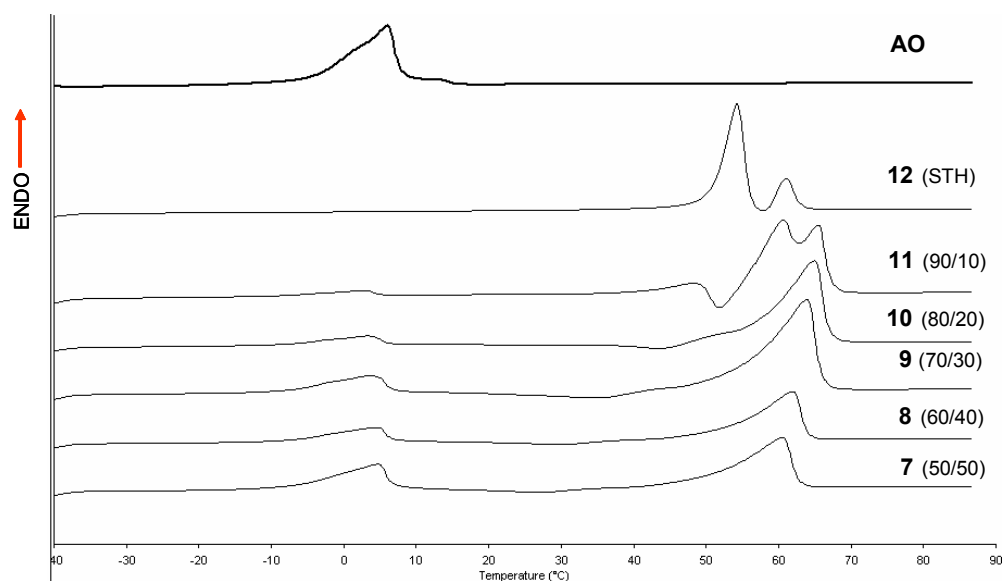


Figura 16 – Termogramas de fusão das misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO) (p/p)

A Tabela 10 mostra a redução da temperatura de cristalização do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) com a adição do ácido oléico (AO). Os termogramas sobrepostos das misturas apresentam dois picos exotérmicos (Figura 17). O pico de maior temperatura corresponde ao óleo de soja totalmente hidrogenado (STH). O óleo de soja totalmente hidrogenado puro (STH) apresenta temperatura de cristalização de 46,54 °C em um pico de maior magnitude e estreito variando até 38,95 °C nas misturas, ocorrendo o deslocamento da curva de cristalização para a esquerda no termograma, sendo 99,6% de triacilgliceróis saturados, onde 63,3% é triestearina. Nas misturas, o pico ao redor de -10°C apresenta uma curva de cristalização menor, correspondendo ao ácido oléico, observado no termograma do ácido oléico (Figura 15). O pico entre 40 °C e 50 °C corresponde aos triacilgliceróis do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH).

Tabela 10 – Comportamento térmico (DSC) de cristalização das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico

Misturas*/ Picos		Temperatura <i>onset</i> (°C)	Temperatura de pico (°C)	Temperatura <i>endset</i> (°C)	ΔH Entalpia de cristalização (J/g)
7	c	-8,85	-10,10	-13,35	26,12
	d	41,56	38,95	35,01	54,38
8	c	-9,25	-10,70	-13,99	13,61
	d	43,32	41,10	37,66	57,26
9	c	-12,18	-13,69	-16,72	11,15
	d	44,90	41,94	37,45	83,35
10	c	-13,85	-18,22	-22,26	8,54
	d	46,49	43,92	39,66	93,69
11	c	-17,38	-19,24	-22,29	2,37
	d	47,97	45,42	41,33	108,76
12 (STH)	d	49,37	46,54	43,61	120,29

*Misturas - proporções de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico - Vide Tabela 6 – Resultados e Discussão

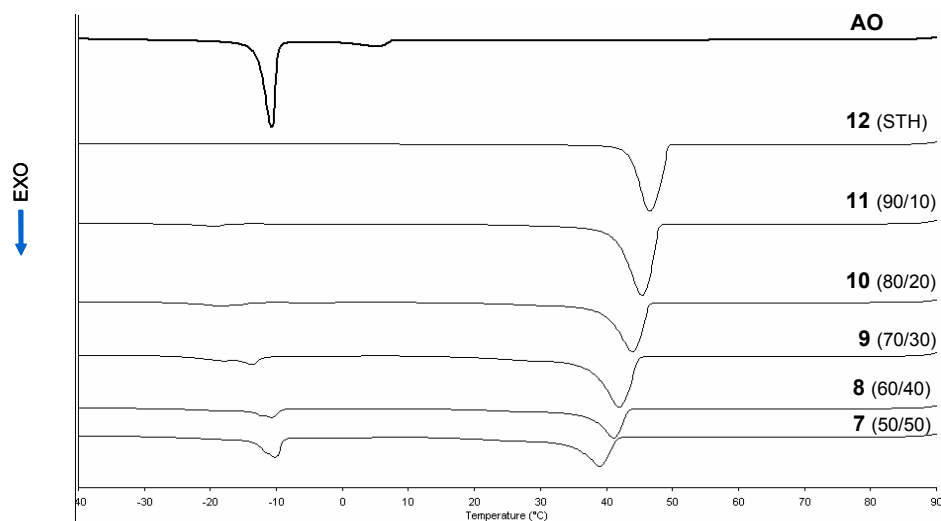


Figura 17 – Termogramas de cristalização das misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO) (p/p)

As Figuras 18 a 21 apresentaram dois picos de fusão e dois de cristalização. Reduzindo o teor de ácido oléico (AO) diminuem-se os **picos a e c** e atenuam-se os **picos b e d**, tornando-os mais pontiagudos e estreitos.

A Mistura 11 composta de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (90/10 - p/p), mostrou uma porção da curva abaixo da linha base, indicando um efeito exotérmico, ou seja, a recristalização de uma parcela de gordura, seguida de sua fusão junto da fração sólida da mistura em estudo (Figura 22).

Este comportamento de cristalização simultânea com fusão foi estudado por Grimaldi (1999). Neste trabalho, estudaram-se as curvas de fusão e cristalização do óleo de palma antes e depois da interesterificação, ocorrendo o mesmo efeito de recristalização de uma parcela da gordura, seguida da fusão junto da fração sólida. Haryati (1997), no estudo do efeito de aquecimento repetitivo no comportamento térmico do óleo bruto de palma, também observou o pico exotérmico na curva de fusão e as formas polimórficas dos cristais. O termograma da Figura 23 mostrou uma curva de fusão com dois picos distintos que são atribuídos às formas polimórficas do STH.

Lopez-Hernandez (2005) reportou também duas formas polimórficas a 53 °C e 63 °C, transições α e β em STH. Na composição de triacilgliceróis, foram identificados na maior concentração SSS (63,3%), seguidos de PSS (30,8%). Nassu (1994) evidenciou este efeito em óleo de palma hidrogenado no estudo do comportamento térmico de óleos e gorduras por DSC.

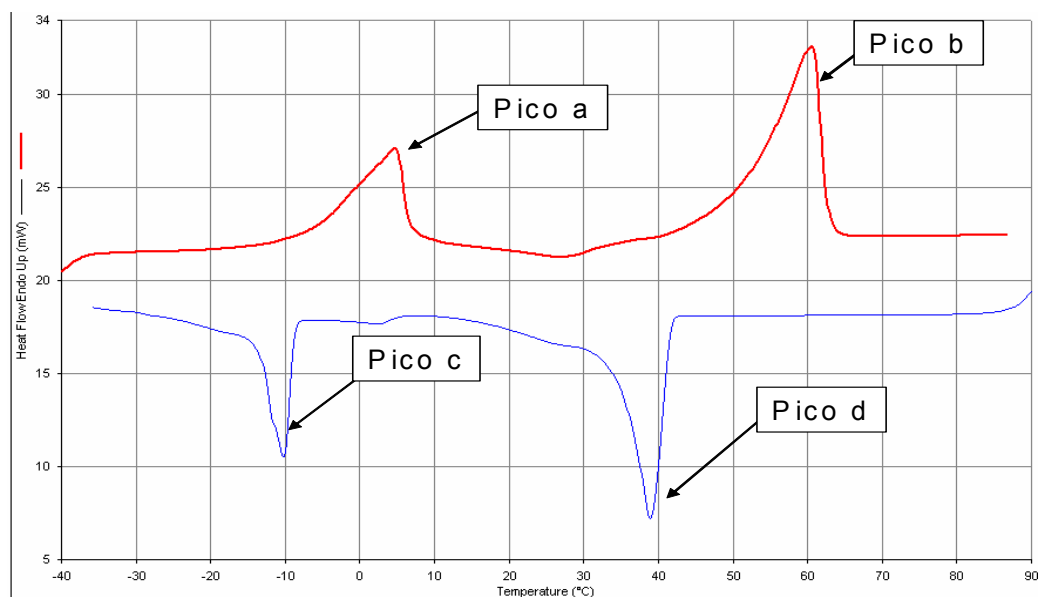


Figura 18 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 7 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 50/50 – p/p)

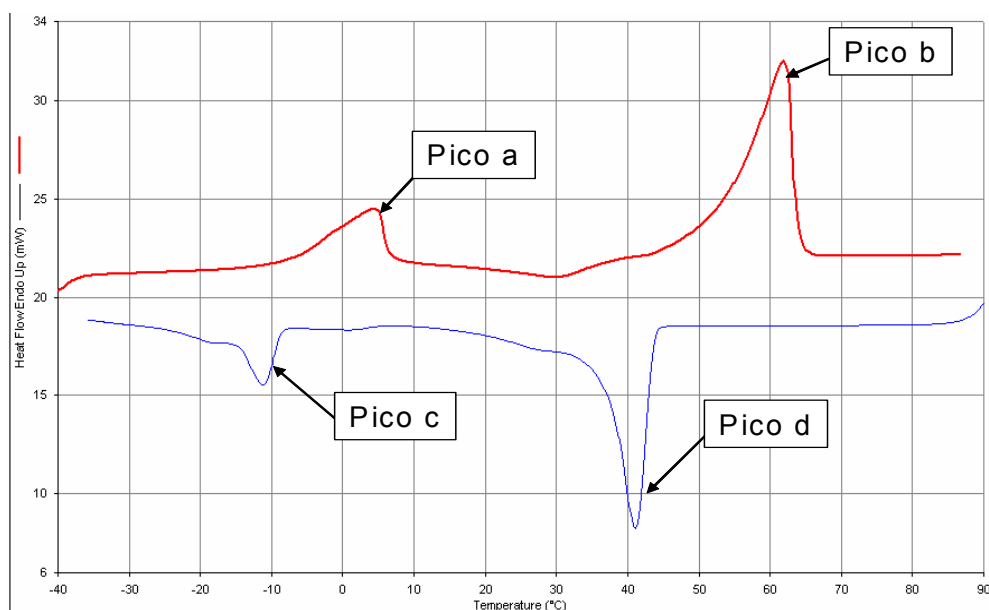


Figura 19 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 8 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 60/40 – p/p)

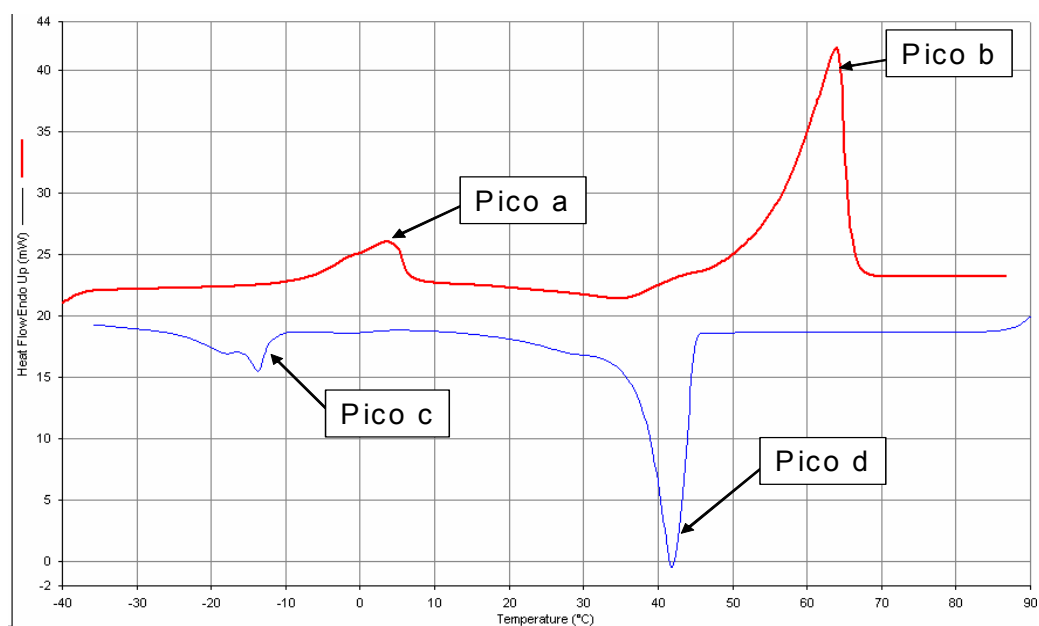


Figura 20 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 9 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 70/30 – p/p)

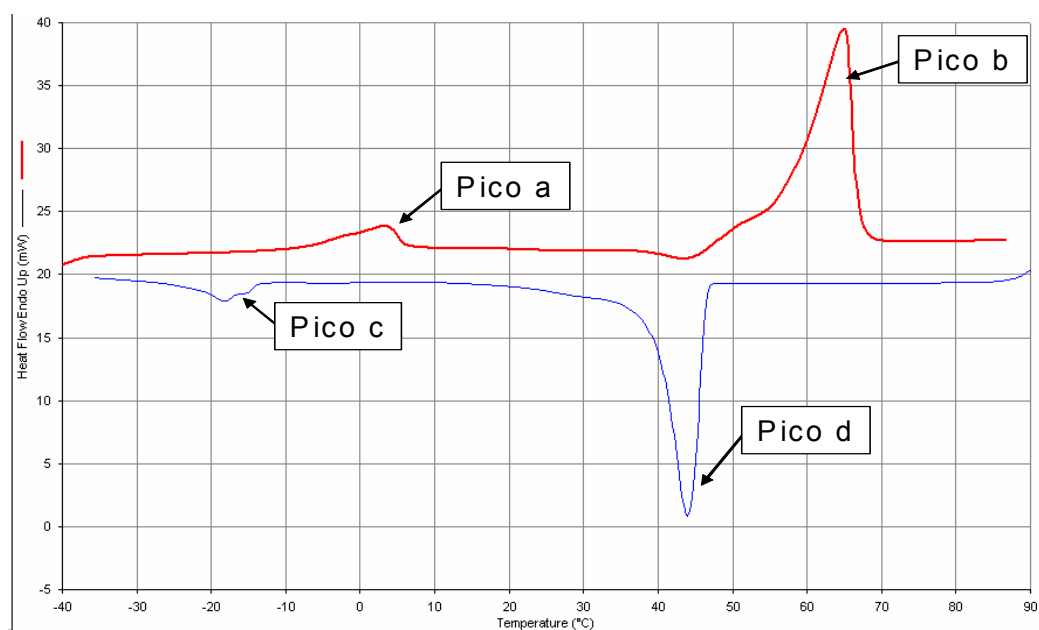


Figura 21 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 10 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 80/20 – p/p)

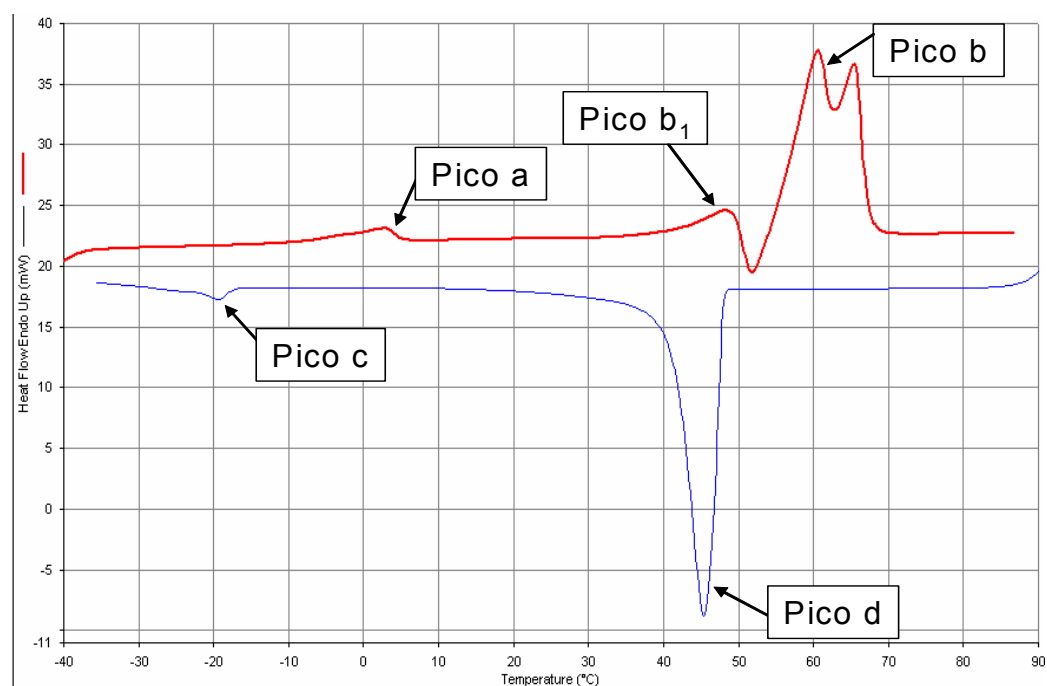


Figura 22 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 11 (óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico – 90/10 – p/p)

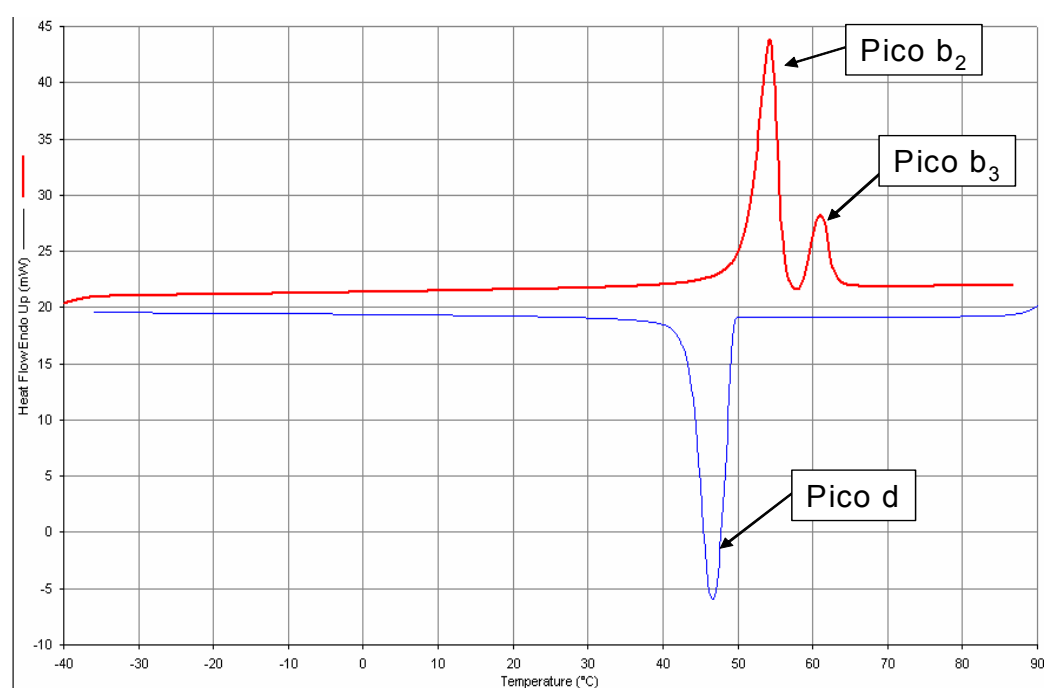


Figura 23 - Curvas de fusão e cristalização do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH)

A adição do ácido oléico ao álcool cetoestearílico resultou no deslocamento da curva de fusão para a esquerda. Houve uma diminuição de temperatura do pico de maior magnitude de 54,56 °C para 36,33 °C e de valores de entalpia de fusão de 133,98 J/g para 58,83 J/g (Tabela 11). Pode-se observar que houve uma maior interação entre ACE e AO, devido ao alargamento das curvas de fusão e à interação de alguns picos (Figura 24), segundo Timms (1984) relacionados a um empacotamento molecular favorável dos lipídios em questão.

Comparando as temperaturas de fusão das misturas pelo método capilar e pelo DSC, verifica-se que os resultados obtidos por DSC foram superiores, com diferenças de 1,4 °C a 3,0 °C (média 2,2 °C), devido à sensibilidade do equipamento, ao contrário de outros métodos de ponto de fusão que são subjetivos, onde visivelmente não é possível detectar os cristais menores. O álcool cetoestearílico é constituído de 70% de álcool estearílico (C18) e 30% de álcool cetílico (C16). O pico de maior magnitude está relacionado ao álcool estearílico e o menor, ao álcool cetílico, este apresenta duas formas polimórficas. Com o aumento da proporção do ácido oléico no álcool cetoestearílico houve um decréscimo do ponto de fusão do pico de maior magnitude do ácido oléico de 6,02 °C para -2,14 °C, surgindo ombro próximo a -10 °C, isto é, provavelmente devido à interação do álcool cetílico com os ácidos graxos saturados contidos na composição do ácido oléico.

Tabela 11 – Comportamento térmico (DSC) de fusão das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico

Misturas*/ Picos		Temperatura <i>onset</i> (°C)	Temperatura de pico (°C)	Temperatura <i>endset</i> (°C)	ΔH Entalpia de fusão (J/g)
13	a	-13,76	-2,14	1,196	31,50
	b	5,30	36,33	39,42	58,83
14	a	-14,34	-1,94	0,62	24,57
	b	4,77	41,50	43,73	96,553
15	a	-14,58	-1,92	0,38	14,59
	b	5,81	45,14	47,09	119,00
16	a	-17,26	-1,26	0,74	10,45
	b	6,15	48,06	50,17	148,57
17	a	-8,47	-3,07	-1,26	1,94
	b	12,64	51,17	53,05	145,73
18 (ACE)	b ₁	20,12	34,74	37,17	62,92
	b	49,35	54,56	56,83	133,98
AO	a	-1,93	6,02	7.84	87.3867

*Misturas - proporções de álcool cetosteárilico e ácido oléico - Vide Tabela 6 – Resultados e Discussão

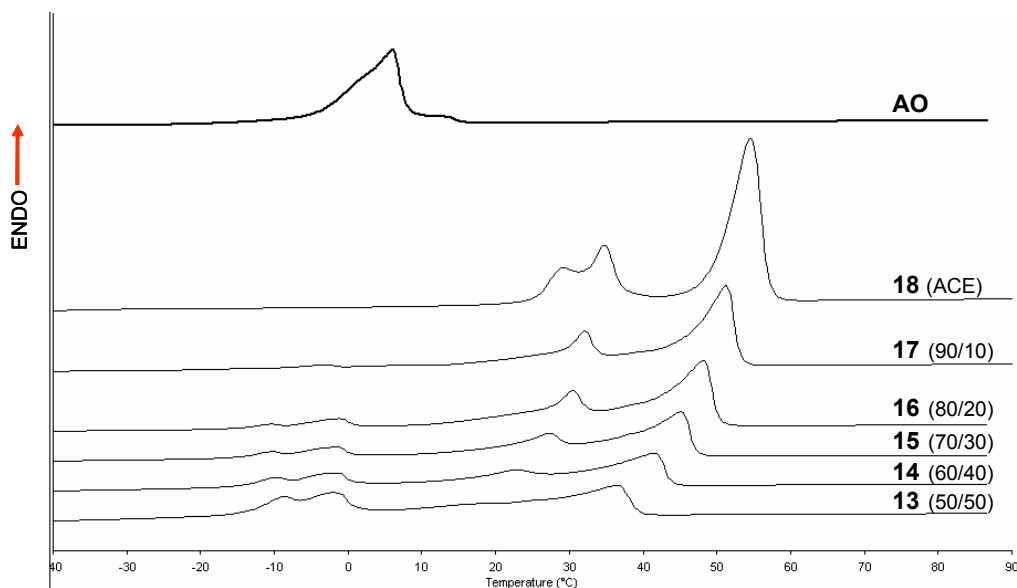


Figura 24 – Termogramas de fusão das misturas do álcool cetosteárilico (ACE) e ácido oléico (AO) (p/p)

O pico de maior magnitude do álcool cetosteárilico com a adição do ácido oléico variou de 47,56 °C para 32,2 °C na curva de cristalização, aumentando a largura do pico, de acordo com a adição do ácido oléico (Tabela 12). As formas polimórficas do álcool cetosteárilico juntaram-se, deslocando o pico em 18 °C, conforme termogramas sobrepostos da misturas (Figura 25). O pico de maior magnitude do ácido oléico variou de -9,0 °C para -26,14 °C e manteve-se estreito, conforme o aumento de ácido oléico na mistura. Este tipo de mistura apresentou uma grande variação na faixa de temperatura de cristalização em relação aos anteriores. Grimaldi (1999) cita soluções sólidas contínuas, onde misturas binárias de lipídios apresentam compatibilidade entre os componentes. Devido à solubilidade no estado sólido, a separação desses componentes é muito difícil.

Tabela 12 – Comportamento térmico (DSC) de cristalização das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico

Misturas*/ Picos		Temperatura onset (°C)	Temperatura de pico (°C)	Temperatura endset (°C)	ΔH Entalpia de fusão (J/g)
13	c	-25,36	-26,14	- 28,57	22,58
	d	35,28	32,20	-23,74	84,09
14	c	-26,15	-27,23	-29,49	18,86
	d	39,82	37,85	-21,19	123,78
15	c	-26,90	-28,12	-30,24	12,11
	d	43,12	41,37	-18,17	136,76
16	c	-27,76	-29,37	-31,32	8,73
	d	45,92	43,44	-17,43	161,23
17	c	-31,76	-32,93	-34,33	2,41
	d	49,03	46,65	-3,95	153,70
18 (ACE)	d ₁	38,60	27,85	18,15	54,16
	d	51,33	47,56	43,41	136,81

*Misturas - proporções de álcool cetosteárilico e ácido oléico - Vide Tabela 6 – Resultados e Discussão

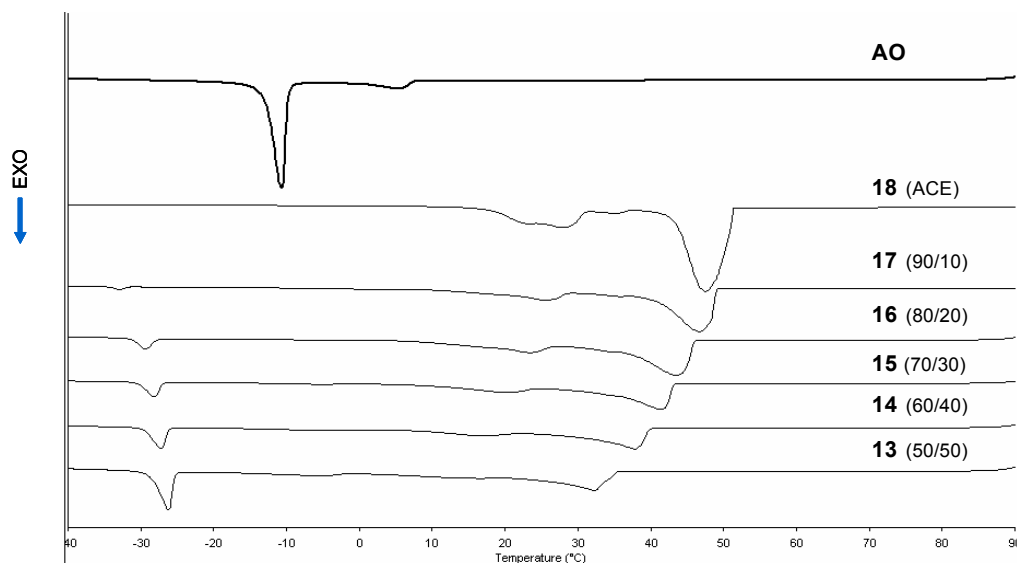


Figura 25 – Termogramas de cristalização das misturas do álcool cetosteárilico (ACE) e ácido oléico (AO) (p/p)

O álcool cetosteárilico puro (Figura 31) apresentou 2 picos de fusão e 2 de cristalização. Nesta amostra, foi encontrado o maior valor de temperatura final de fusão, devido à alta concentração de cadeias graxas saturadas. Com a adição do ácido oléico na Mistura 15 (70/30 – ACE/AO), houve uma interação dos lipídios, surgindo mais um pico na fusão e cristalização. Gandolfo *et al* (2003) estudaram o diagrama de fases de misturas de ácido esteárico e álcool estearílico e observou que na fração 0,1 molar do álcool estearílico, este se tornou parcialmente miscível na fração sólida do ácido esteárico, em um pico endotérmico inferior à temperatura eutética da mistura. Nas Misturas 16 (80/20 – ACE/AO) e 17 (90/10 – ACE/AO), houve uma redução no pico **a** (endotérmico), evidenciando a interação do AO no ACE, desaparecendo os picos exotérmicos ao redor de -10 °C e 5 °C característicos do AO e surgindo um pico ao redor de -30 °C.

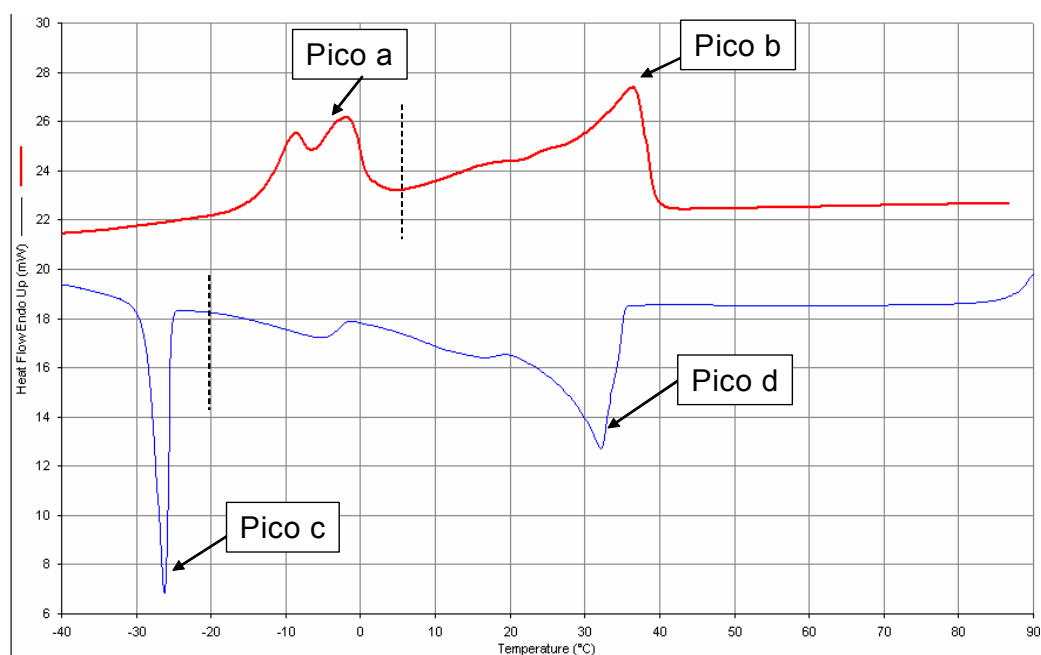


Figura 26 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 13 (álcool cetosteárilico e ácido oléico – 50/50 – p/p)

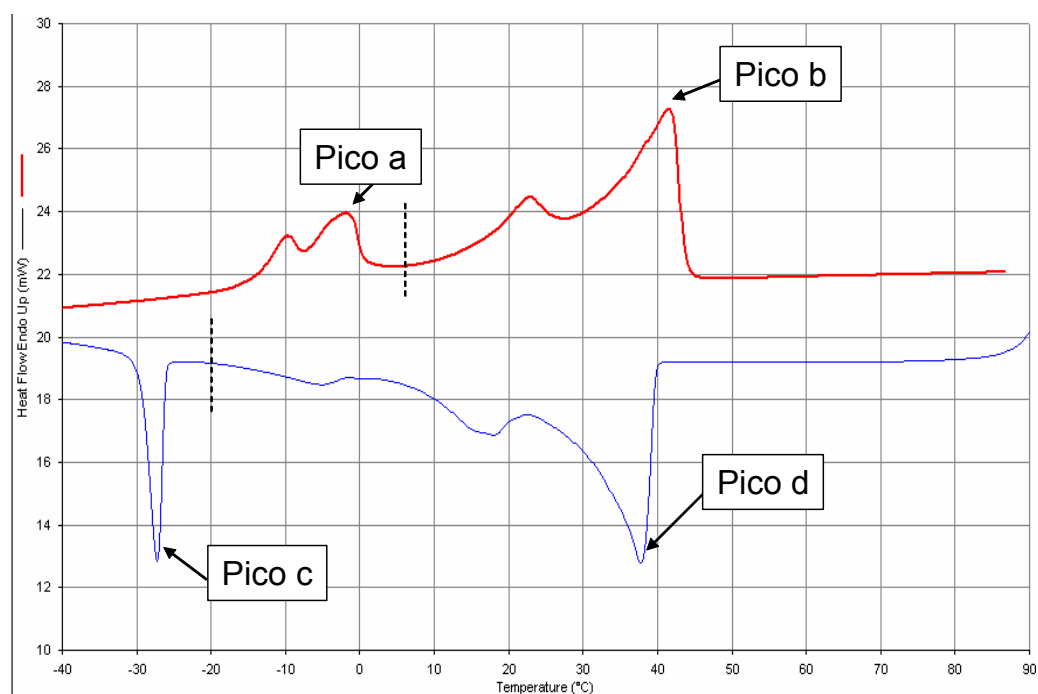


Figura 27 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 14 (álcool cetosteárilico e ácido oléico – 60/40 – p/p)

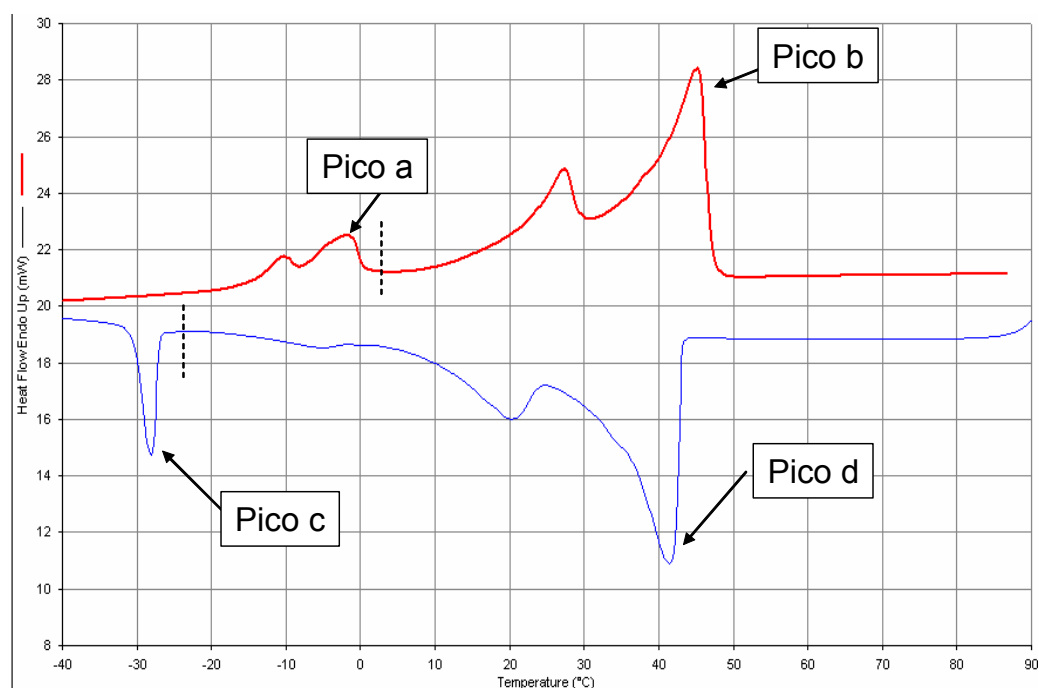


Figura 28 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 15 (álcool cetosteárilico e ácido oléico – 70/30 – p/p)

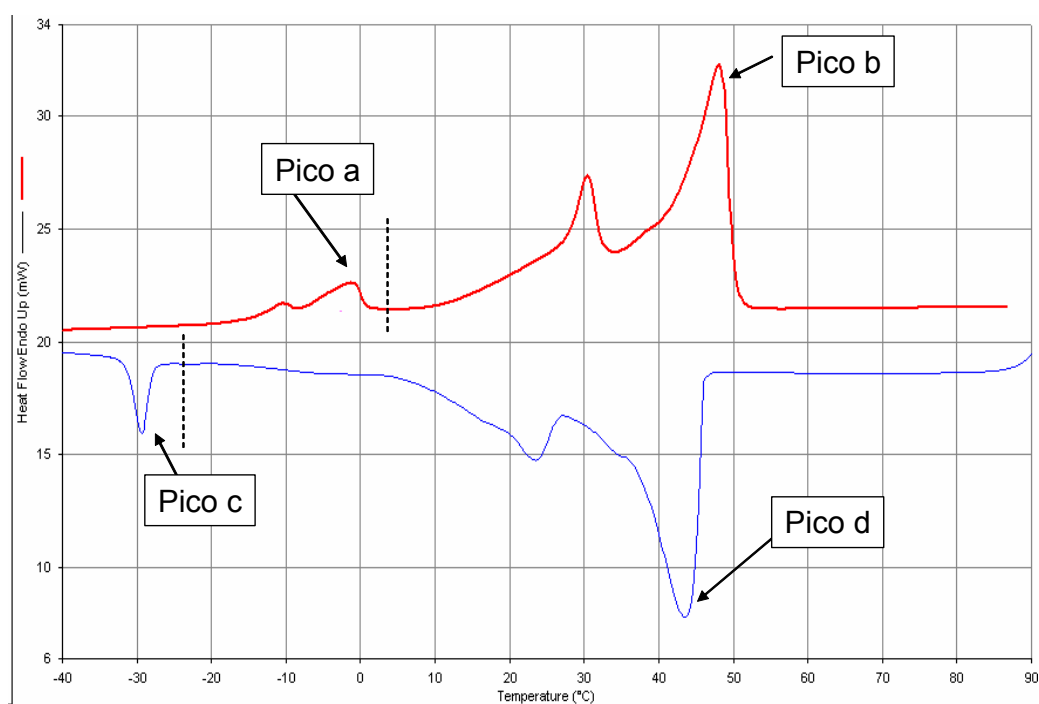


Figura 29 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 16 (álcool cetosteárilico e ácido oléico – 80/20 – p/p)

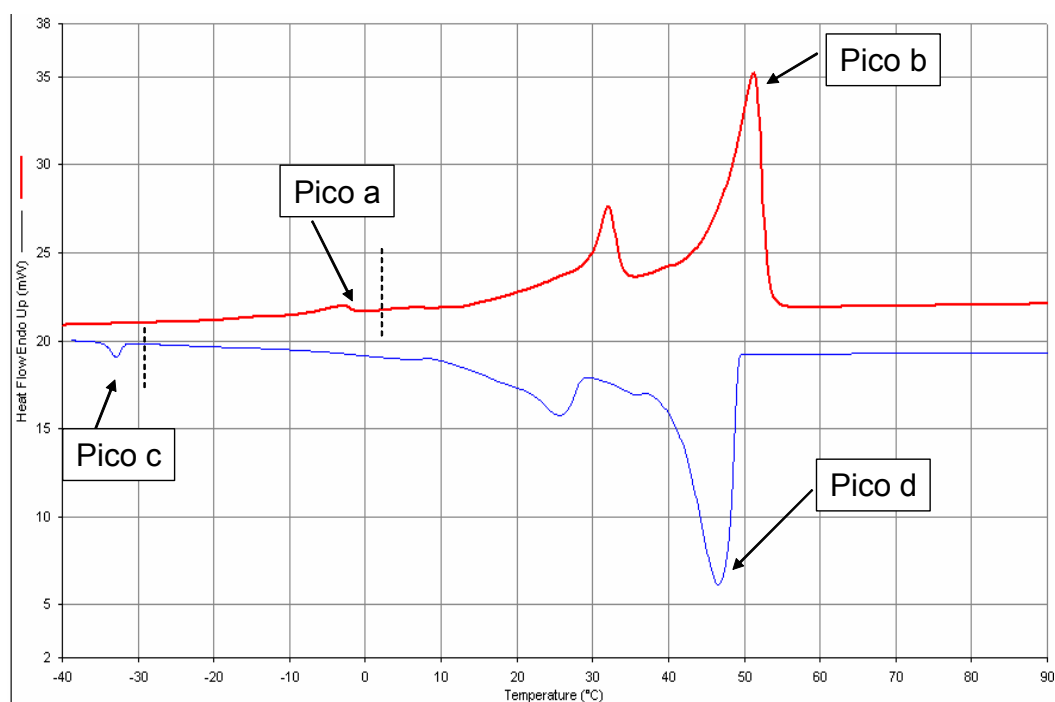


Figura 30 - Curvas de fusão e cristalização da Mistura 17 (álcool cetosteárilico e ácido oléico – 90/10 – p/p)

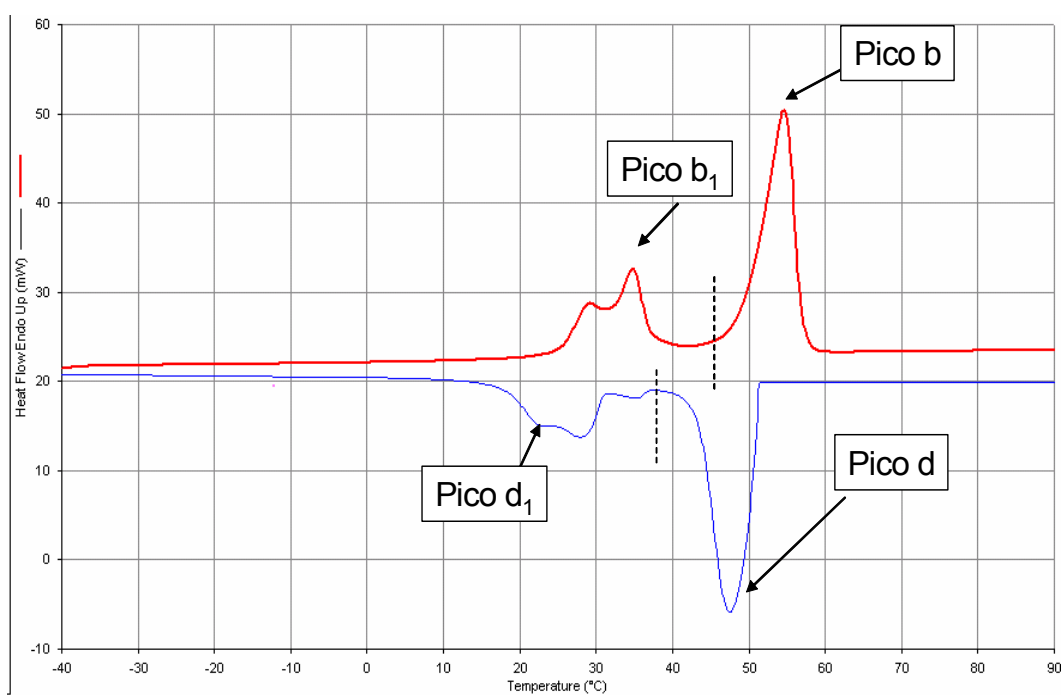


Figura 31 - Curvas de fusão e cristalização do álcool cetosteárilico (ACE)

6.2.2.2 Conteúdo de gordura sólida (SFC)

O conteúdo de gordura sólida (SFC) proporciona uma boa indicação do comportamento global do lipídio e de suas misturas. Indica o percentual de gordura que se encontra no estado sólido a uma determinada temperatura (HUMPHREY e NARINE, 2005).

Segundo Narine e Marangoni (1999), um conjunto de triacilgliceróis, apesar de cada um apresentar orientação estéreo-específica conhecida, forma estruturas cristalinas particulares. As principais forças que levam à formação dessa rede são as forças de atração de *van der Waals*. A complexidade e a flexibilidade destas moléculas também permitem diferentes empacotamentos do mesmo conjunto de moléculas, levando à existência de diferentes formas polimórficas.

Foram realizados os testes de conteúdo de gordura sólida nas misturas lipídicas selecionadas no item 5.2.3. (Tabela 2). A Figura 32 das misturas de ácido esteárico e ácido oléico mostra que as curvas de sólidos apresentam perfis diferentes e estão relacionadas à adição do AO ao AE em todas as temperaturas consideradas. Com o aumento do AO nas misturas há um decréscimo do teor de sólidos. A 10° C as misturas apresentam uma variação de 98% a 65% do teor sólidos e com fusão total a 60° C. A maior redução dos teores de sólidos foi a 45 °C, devido à maior proporção de cadeia saturada do ácido esteárico que funde a alta temperatura.

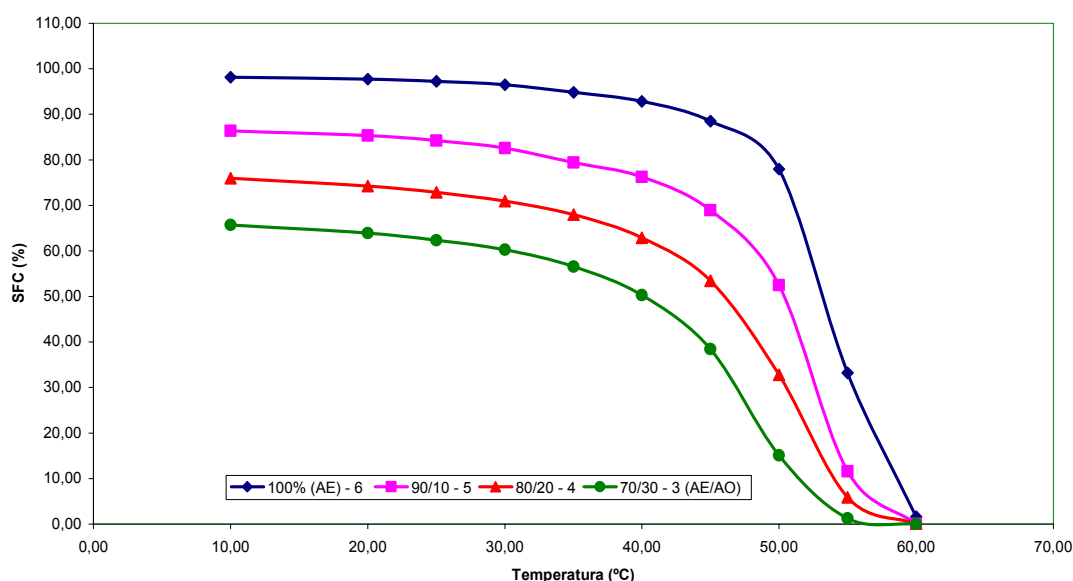


Figura 32 - Conteúdo de gordura sólida (SFC) em função da temperatura em misturas de ácido esteárico e ácido oléico (p/p)

Os diagramas de iso-sólidos são úteis para estudar a compatibilidade de diferentes lipídios (CAMPOS, 2005). As linhas de iso-sólidos representam a temperatura na qual o conteúdo de gordura sólida de um lipídio ou mistura de lipídios é constante. Quando óleos e gorduras com diferentes composições são misturados, alguns tipos de comportamento são observados: soluções sólidas (compatibilidade entre os lipídios), comportamento eutético e monotético (TIMMS, 1984). Foram determinados os iso-sólidos das misturas relacionadas na Tabela 2 (misturas lipídicas escolhidas para a produção de MpL).

A Figura 33 mostra o diagrama de iso-sólidos das misturas de ácido esteárico e ácido oléico. Os teores de sólidos de 10 a 45%, as curvas correspondem a misturas com maior compatibilidade. Na faixa de 50 a 65%, abaixo de 40°C, as curvas começam a se distanciar, principalmente na Mistura 3 (70/30 – AE/AO) com maior teor de ácido oléico, o efeito é mais pronunciado. Isto evidência que o ácido esteárico é compatível com ácido oléico quando estão na fase líquida, porém incompatíveis na fase sólida do ácido esteárico, indicando um sistema de comportamento eutético com menor ponto de fusão.

Ionue *et al* (2004a) estudaram os diagramas de fases de misturas de ácidos esteárico/oléico e behênico/oléico e concluíram que as duas misturas são completamente imiscíveis na fase sólida dos ácidos saturados, enquanto que na fase líquida são compatíveis.

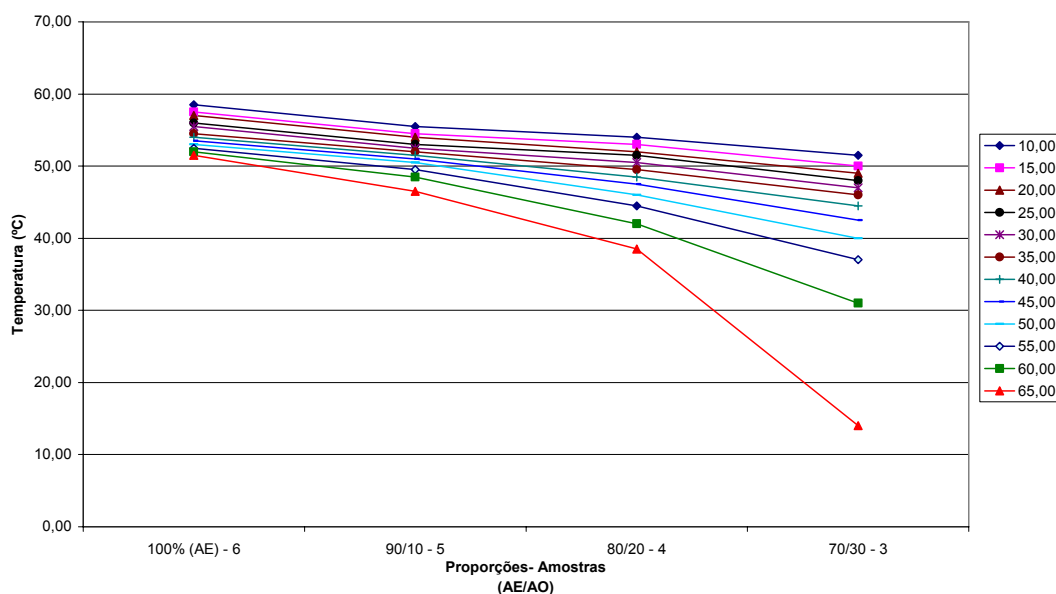


Figura 33 – Diagrama iso-sólidos das misturas de ácido esteárico e ácido oléico (p/p).

Nas misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico o comportamento é similar ao do ácido esteárico (Figura 34). Observa-se que há uma redução do conteúdo de sólidos conforme aumenta a proporção de ácido oléico nas misturas e as curvas também apresentam perfis diferentes. A 10 °C as misturas apresentam uma variação de 81% a 61% no teor de sólidos e com fusão total a 65 °C. A maior redução de sólidos iniciou a 50 °C, relacionado à maior proporção de triacilgliceróis tri-saturados.

Ribeiro *et al* (2009) estudaram misturas de óleo de soja e óleo de soja totalmente hidrogenado e citaram que a maior redução no teor de sólidos foi à temperatura de 50 °C.

Conforme Yankah e Akoh (2000), as gorduras podem alterar suas propriedades físico-químicas, de acordo com as variações na composição em

triacilgliceróis, devido à proporção de ácidos graxos saturados ou insaturados na molécula.

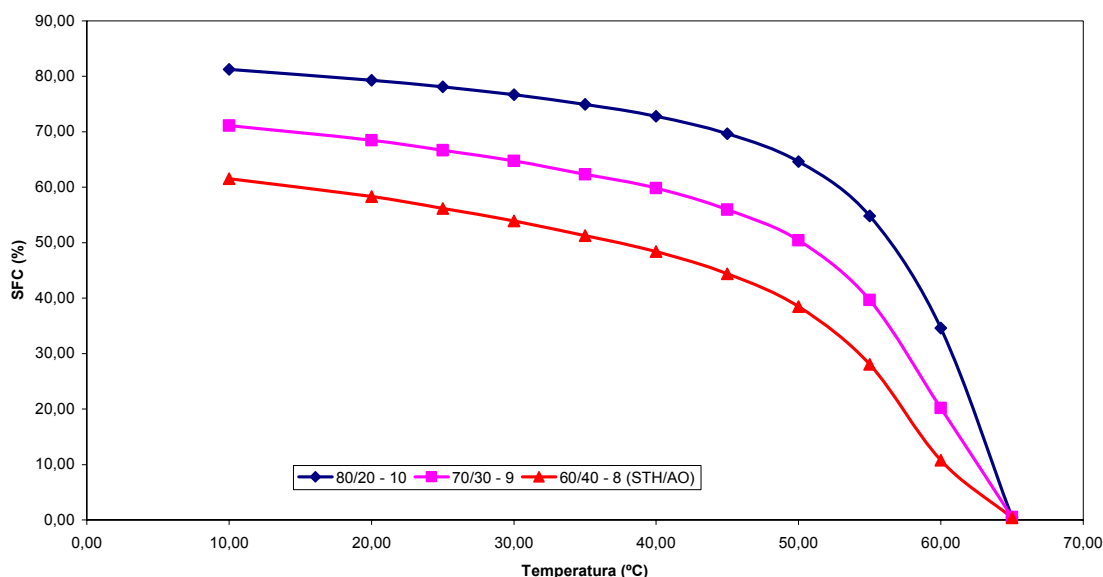


Figura 34 - Conteúdo de gordura sólida (%) em função da temperatura para misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (p/p)

A Figura 35 mostra o diagrama de iso-sólidos das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico. No conteúdo de sólidos de 10% a 35%, as curvas apresentam maior compatibilidade. Na faixa de 40% a 60%, abaixo de 55 °C, as curvas começam a se distanciar, principalmente na mistura 60/40 com maior teor de ácido oléico, o efeito é mais pronunciado. O comportamento eutético também é evidente nestas misturas. As temperaturas de fusão das misturas são mais elevadas, relacionadas com as misturas de ácidos graxos, devido ao maior ponto de fusão da soja hidrogenada. Este tipo de comportamento foi observado por Humphrey *et al* (2003) no estudo de misturas binárias de óleo de canola totalmente hidrogenado e óleo de soja. Com a temperatura e o aumento da porcentagem de canola hidrogenada, as linhas de iso-sólidos deslocaram-se para a direita. Observaram também que misturas de óleo de soja e canola totalmente hidrogenada podem apresentar 20% de conteúdo de gordura sólida entre 30 °C e 60 °C.

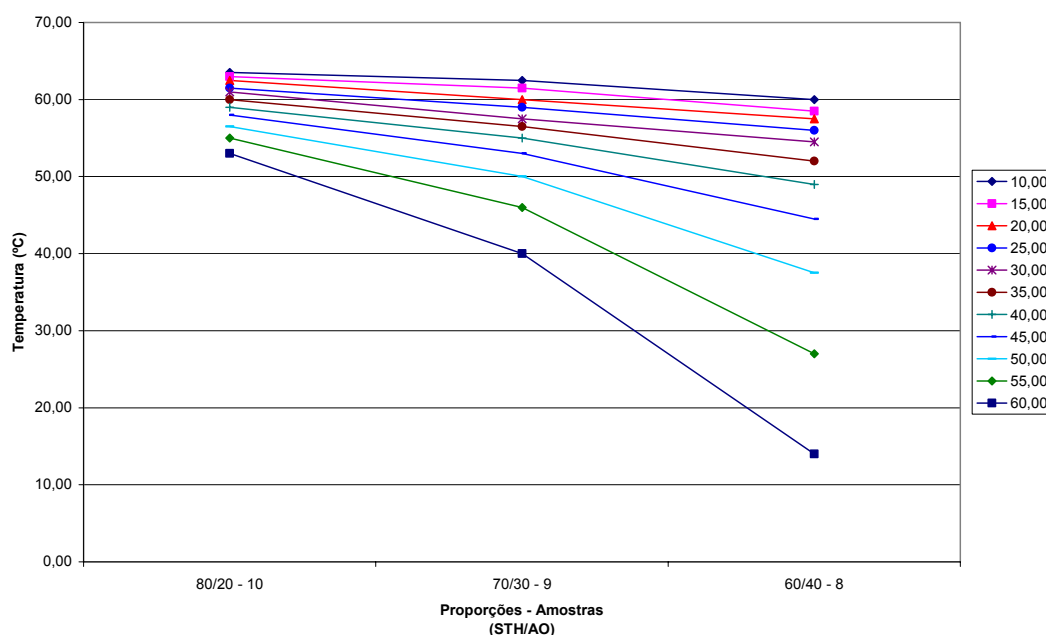


Figura 35 – Diagrama de iso-sólidos das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (p/p)

Nas misturas de álcool graxo e ácido oléico, as curvas do conteúdo de gordura sólida (Figura 36) mostraram-se diferentes das misturas anteriores (AG e TAG). Com a adição do ácido oléico no álcool cetosteárilico houve uma grande variação na Mistura 17 (90/10 – ACE/AO) na menor quantidade de ácido oléico (AO), sendo a diferença de 20% de teor de sólidos do álcool cetosteárilico a 40 °C. Este fato evidencia uma interação entre os lipídios. Esta redução de 20% de sólidos também aconteceu na Mistura 16 (80/20 – ACE/AO) a 40 °C. Na temperatura de 50 °C, o álcool cetosteárilico apresentava 85% de sólidos, enquanto que a Mistura 17 (90/10 – ACE/AO) somente 12% e a Mistura 16 (80/20 – ACE/AO) já estava líquida. Na temperatura de 55 °C, o álcool cetosteárilico estava totalmente líquido. A composição do álcool cetosteárilico apresenta 70% de álcool estearílico (C18) e 30% de álcool cetílico (C16), estes lipídios conforme as análises térmicas apresentaram temperaturas de fusão diferentes, um pico de 49,35 °C (T_{onset}) a 56,83 °C (T_{endset}) e outro de 20,12 °C (T_{onset}) a 37,17 °C (T_{endset}).

respectivamente; este último com dois ombros, representando formas polimórficas (Figura 31).

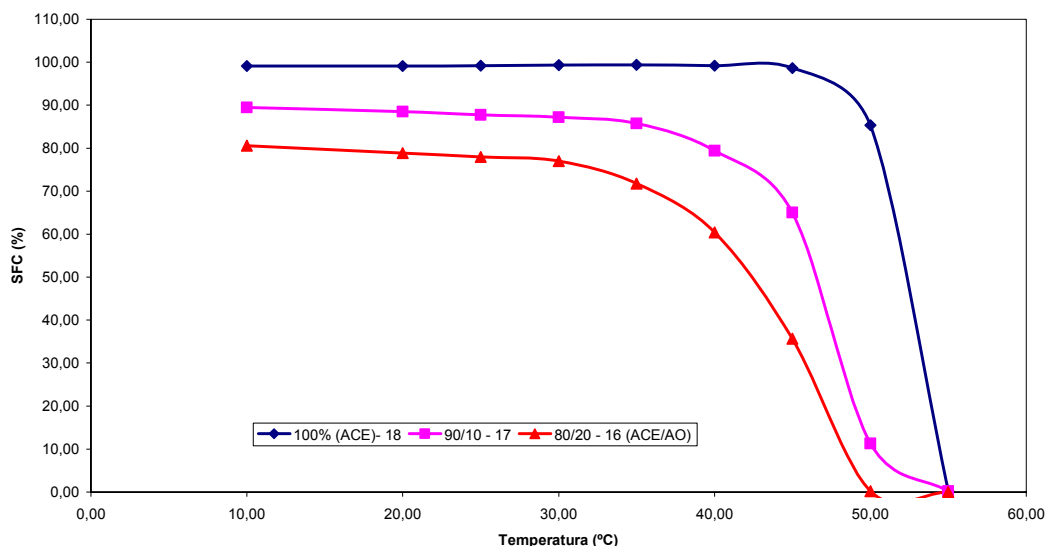


Figura 36 - Conteúdo de gordura sólida em função da temperatura para misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico (p/p)

As curvas dos iso-sólidos das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico (Figura 37) são similares e muito próximas. O conteúdo de sólidos na faixa de 10 a 55% apresentam as curvas de maior compatibilidade, na faixa de temperatura de 54 °C a 41 °C. Na faixa de 60% a 70%, abaixo de 52 °C, as curvas começam a se distanciar, principalmente na Mistura 16, onde o teor de ácido oléico (20%) é maior e o efeito mais pronunciado. Porém, bem diferente dos grupos AG e TAG, onde a distância da curva é maior nas misturas com maior teor de ácido oléico.

Gandolfo *et al* (2003) investigaram misturas binárias de ácido esteárico e álcool estearílico em diagramas de fases de fusão e cristalização. Foram construídos diagramas de fase no aquecimento e resfriamento e foi verificado um comportamento eutético na linha de equilíbrio sólido-líquido.

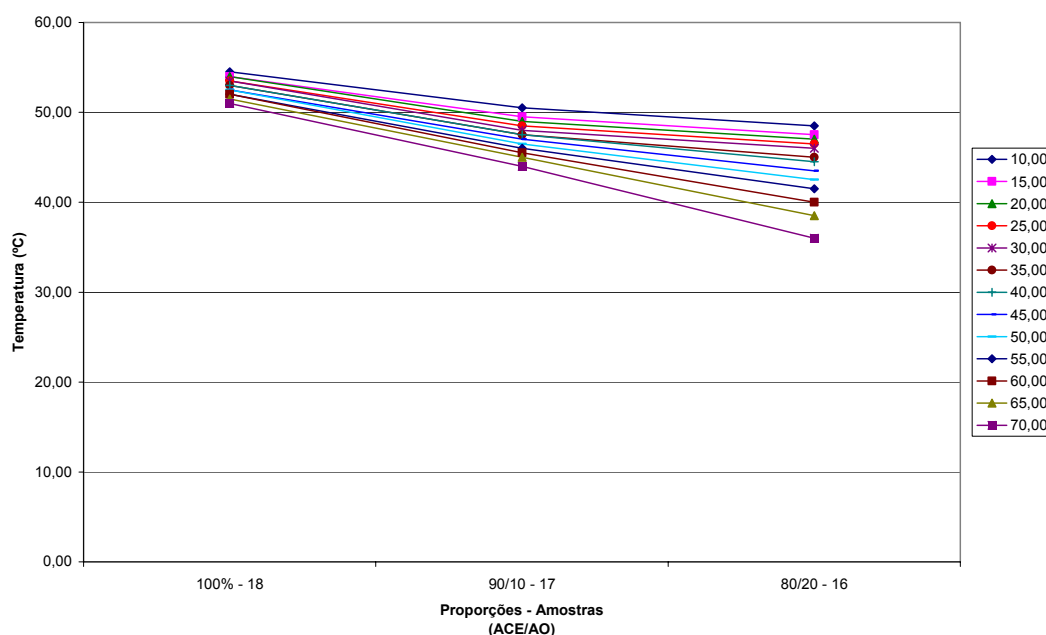


Figura 37 - Diagrama de iso-sólidos das misturas de álcool cetosteárfílico e ácido oléico (p/p)

6.3 PREPARO E ESTABILIDADE DAS EMULSÕES

Nesta etapa, foram produzidas as emulsões com as misturas selecionadas na Tabela 2, conforme item 2.2.2.3 (Materiais e Métodos) e observadas as estabilidades durante 30 minutos a 70 °C, semelhante ao processo utilizado por Leonel (2008). Foram também determinadas as viscosidades ideais para o processamento no equipamento de *spray chilling* e a produção de micropartículas com aspecto não aglomerado e sem adesão a temperatura ambiente.

Knoth (2005) estudou emulsões água em óleo (30/70) preparadas com lecitina com baixo teor de fosfatidilcolina como emulsificante em óleo de girassol. Na fase aquosa variou adicionando caseinato de sódio, proteína isolada, gelatina e/ ou goma xantana e investigou o tamanho de partícula, bem como a estabilidade da emulsão. Emulsões mais estáveis e de tamanho menor de partícula foram obtidas com adição da proteína isolada em água.

As misturas de ácido esteárico e ácido oléico na proporção 60/40 e do álcool cetoestearílico e ácido oléico nas proporções 60/40 e 70/30 produziram micropartículas aglomeradas e foram reprovadas.

Não houve condições de processar as emulsões das misturas lipídicas do óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico nas proporções de 90/10 e 100/0, devido ao alto ponto de fusão do STH, proporcionando uma alta viscosidade a 70 °C, semelhante a um creme. Bem como, as misturas lipídicas na proporção 50/50 de todos os grupos, devido a alta concentração de ácido oléico (lipídio líquido), ocasionando, baixo ponto de cristalização das misturas, produzindo microcápsulas aglomeradas e instáveis a temperatura ambiente.

Portanto, as emulsões das misturas lipídicas selecionadas (Tabela 2) para a continuação do estudo foram:

- Ácido esteárico / Ácido oléico: **70/30, 80/20, 90/10 e 100/0**.
- Soja Totalmente Hidrogenada / Ácido oléico: **60/40, 70/30 e 80/20**.
- Álcool Cetoestearílico / Ácido oléico: **80/20, 90/10 e 100/0**.

Todas as emulsões foram estáveis à temperatura e tempo de processo, conforme procedimento experimental (item 5.2.2).

6.4 PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS LIPÍDICAS (MpLs)

Analisando visualmente e nos testes práticos dos três grupos da MpLs obtidas pode-se afirmar que as misturas do ácidos esteárico (AE) e oléico (AO) apresentaram melhor produção das MpL por *spray chilling* e excelente estabilidade a temperatura de 4 °C (micropartículas soltas), após 30 dias, seguido pelas misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO). As MpLs produzidas com as misturas do álcool cetoestearílico (ACE) e ácido oléico (AO) não apresentaram boa estabilidade: a Mistura 16 (80/20 – ACE/AO) estava parcialmente aglomerada, enquanto que a Mistura 17 (90/10 – ACE/AO) e o álcool cetoestearílico puro (100/0 – ACE/AO) estavam normais, porém após 30 dias estavam todas

aglomeradas a temperatura de 4 °C. Esta instabilidade pode ser explicada pelos resultados obtidos de menores pontos de fusão do grupo do álcool cetosteárilico relacionados à todas as misturas lipídicas (Tabela 6). Nos termogramas (Figuras 24 e 25) e no diagrama de iso-sólidos (Figura 37) houve uma maior interação entre os lípidos sólido e líquido, comparados às outras misturas. As Figuras 38 a 40 mostram os aspectos das micropartículas lipídicas após 30 dias de estabilidade.



Figura 38 - Fotos misturas Ácido esteárico / Ácido oléico.
Proporções (3) 70/30, (4) 80/20 (p/p), (5) 90/10 e (6) 100/0



Figura 39 - Fotos misturas Óleo de soja totalmente hidrogenado/ Ácido oléico.
Proporções (8) 60/40, (9) 70/30 (p/p) e (10) 80/20



Figura 40 - Fotos misturas Álcool cetosteárfílico/ Ácido oléico.
Proporções (16) 80/20, (17) 90/10 (p/p) e (18) 100/0

Foi observado que as temperaturas de processo variaram com o ponto de fusão das misturas lipídicas, e consequentemente, com as viscosidades das emulsões (Tabela 13). O tempo de processo das misturas de álcool cetosteárfílico (ACE) e ácido oléico (AO) foi menor em relação aos outros lipídios, devido à baixa viscosidade. As misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO) apresentaram maior viscosidade entre os grupos estudados e, conforme o aumento do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) na mistura houve um aumento na viscosidade, como observado na Mistura 10 (80/20 – STH/AO). Não foi possível realizar os testes nas proporções 90/10 (STH/AO) e óleo de soja totalmente hidrogenado (STH), devido à alta viscosidade e o aspecto de creme da emulsão.

A Mistura 10 não foi processada a uma temperatura maior, consequentemente, menor viscosidade de processo, devido à altura restrita da câmara fria. As temperaturas das amostras, dos banhos de água do reator e do atomizador foram ajustadas para obter micropartículas com temperaturas ideais para o processo e que não aderissem no coletor. Esta mistura não foi descartada pela viscosidade, pois é uma mistura que todos os grupos apresentam esta proporção de lipídios sólido e líquido (80/20), assim torna-se uma experiência para comparar os resultados entre os grupos de lipídios.

Tabela 13 - Viscosidades das emulsões durante o processo de produção das micropartículas

Misturas	Composição das misturas	Temperatura da amostra no tanque* (°C)	Temperatura do atomizador (°C)	Emulsões Viscosidade Brookfield *, cP
3	70/30 (AE/AO)	65	59	76,5 \pm 0,2
4	80/20 (AE/AO)	65	61	80,3 \pm 0,5
5	90/10 (AE/AO)	65	64	74,9 \pm 0,2
6	100 (AE)	65	65	69,2 \pm 0,3
8	60/40 (STH/AO)	65	66	76,4 \pm 0,6
9	70/30 (STH/AO)	65	67	126,3 \pm 1,2
10	80/20 (STH/AO)	65	68	999,9 \pm 2,6
16	80/20 (ACE/AO)	60	56	47,3 \pm 0,4
17	90/10 (ACE/AO)	62	62	44,2 \pm 0,5
18	100 (ACE)	65	62	21,0 \pm 0,2

*Temperatura da amostra no tanque utilizada para medir a viscosidade. Análises realizadas em triplicata.

6.4.1 Caracterização das micropartículas lipídicas

As micropartículas produzidas foram analisadas quanto à distribuição de tamanho e diâmetro médio, morfologia e microestrutura, quantidade de recheio superficial, eficiência de encapsulação e liberação do recheio.

6.4.1.1 Distribuição do tamanho e diâmetro médio

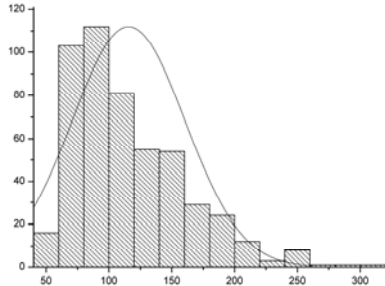
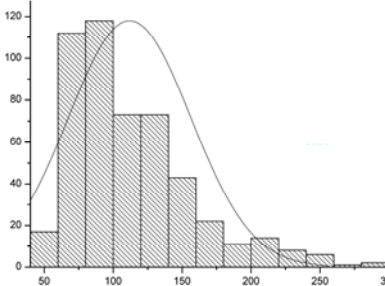
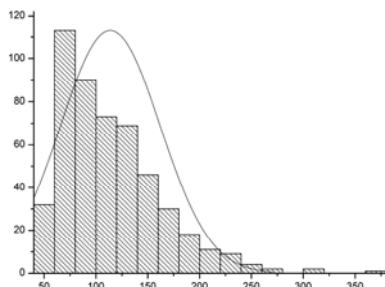
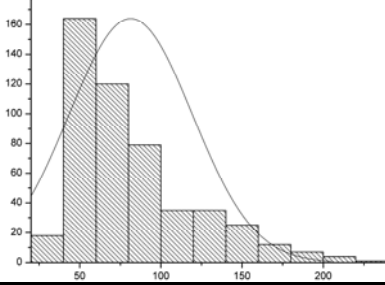
Partículas esféricas com diâmetro variando de 1 – 350 μm foram obtidas nos três grupos de micropartículas lipídicas processados.

Segundo Mukai-corrêa *et al.* (2004) e Onal & Langdon (2005), o tamanho da partícula pode ser manipulado pela variação do tamanho do orifício do bico pulverizador, pela taxa de fluxo de ar, temperatura e viscosidade da emulsão a ser pulverizada, e pela relação entre os mesmos.

A Tabela 14 mostra os histogramas das micropartículas lipídicas das misturas de ácido esteárico e ácido oléico. A distribuição do tamanho de partícula apresentou uma extensa faixa, compreendida entre 1 e 350 μm , com a maioria das partículas entre 50 – 150 μm . Os valores de diâmetro médio encontrados foram de 81,4 – 115,6 μm . Foi observado, neste grupo que o ácido esteárico puro (AE), sem o lipídio insaturado (ácido oléico), apresentou o menor tamanho de partícula.

Passerini *et al* (2003) encontraram resultados próximos de tamanho de partículas e diâmetros médios em um estudo de controle de liberação da substância Verapamil HCl dispersa em ceras, parafina microcristalina, álcool estearílico e suas misturas, com lecitina como surfactante, produzidas por *spray congealing*. Em outro estudo de Passerini *et al* (2002), de microcápsulas de Carbamazepine-Gelucire 50/13 em diferentes proporções de droga e polímero, foram obtidos resultados de tamanho de partícula numa faixa de 150 – 250 μm pelo processo *spray chilling*. Albertini *et al* (2008) produziram micropartículas com hidrocloreto de profenona e vitamina E em excipientes lipofílicos (cera de carnaúba, álcool estearílico e álcool cetoestearílico), hidrofílicos (PEG 400) e lecitina de soja. A faixa de tamanho de partícula obtida foi de 75 - 500 μm , mediana de 75 - 150 μm .

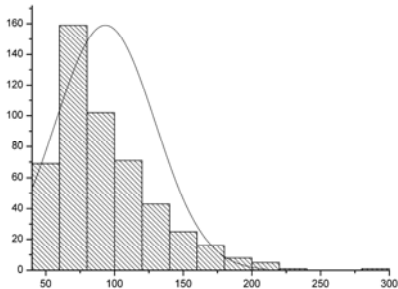
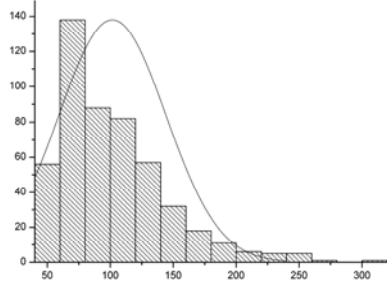
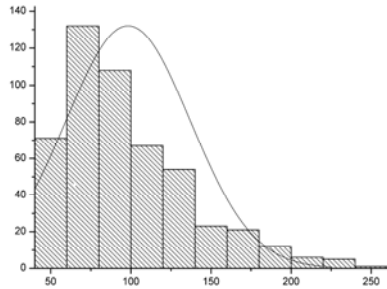
Tabela 14 - Diâmetro médio, desvio padrão e distribuição de tamanho das micropartículas de misturas de ácido esteárico e ácido oléico

Amostras	Diâmetro médio (μm)	Distribuição de tamanho
3 (proporção 70/30)	$115,63 \pm 45,13$	
4 (proporção 80/20)	$111,94 \pm 44,47$	
5 (proporção 90/10)	$113,86 \pm 48,27$	
6 (proporção 100/0)	$81,39 \pm 38,00$	

A Tabela 15 mostra as micropartículas lipídicas das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO) numa faixa de distribuição de partícula entre 1 - 250 μm , sendo a maioria entre 50 - 150 μm . Os valores de diâmetro médio foram de 93,39 – 101,67 μm , uma faixa mais estreita que o grupo anterior.

Reithmeier *et al* (2001) produziram micropartículas de somastotatina com tripalmitato de glicerila como matriz e obtiveram um diâmetro médio de 92,8 μm .

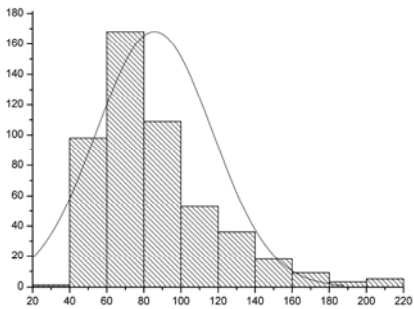
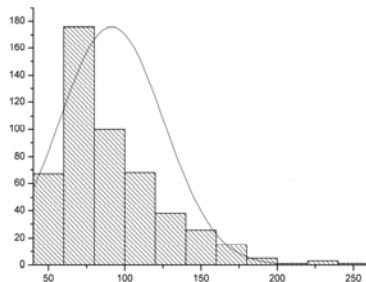
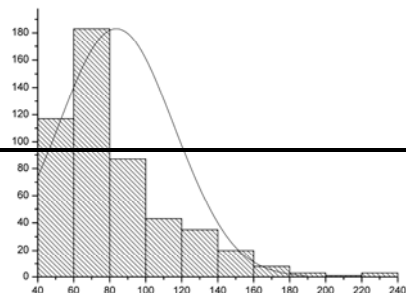
Tabela 15 - Diâmetro médio, desvio padrão e distribuição de tamanho das micropartículas de misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico

Amostras	Diâmetro médio (μm)	Distribuição de tamanho
8 (proporção 60/40)	$93,39 \pm 36,02$	
9 (proporção 70/30)	$101,67 \pm 42,60$	
10 (proporção 80/20)	$98,26 \pm 39,10$	

A Tabela 16 apresenta a faixa de distribuição do tamanho de partícula das misturas de álcool cetosteárico (ACE) e ácido oléico (AO) de 1 a 250 μm , sendo a maioria entre 50 a 150 μm . O diâmetro médio de 83,62 a 91,36 μm , um tamanho inferior as misturas com o óleo de soja totalmente hidrogenado (STH).

Albertini (2008), no estudo de obtenção de MpLs no novo *spray congealing atomizer*, observou que os valores das viscosidade das suspensões estão relacionados diretamente com o tamanho de partícula, assim como que viscosidades menores resultam em menor tamanho de partícula.

Tabela 16 - Diâmetro médio, desvio padrão e distribuição de tamanho das micropartículas de misturas de álcool cetosteárico e ácido oléico

Amostras	Diâmetro médio (μm)	Distribuição de tamanho
16 (proporção 80/20)	$85,73 \pm 31,39$	
17 (proporção 90/10)	$91,36 \pm 34,03$	
18 (proporção 100/0)	$83,62 \pm 32,36$	

6.4.1.2 Morfologia e microestrutura

A Figura 41 apresenta as imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas das misturas do ácido esteárico (AE) e ácido oléico (AO). Observa-se uma forma esférica, mononucleada e uma grande quantidade de recheio (glicose) em todas as amostras, demonstrando uma alta eficiência de encapsulação. Todas as amostras apresentaram partículas menores com ausência de recheio. Leonel (2008) obteve resultados com alta eficiência de encapsulação, em micropartículas lipídicas produzidas por *spray chilling* com recheio hidrofílico. Elden (1991a) verificou que a adição de lecitina melhora a morfologia de superfície da micropartícula, modificando a tensão superficial.

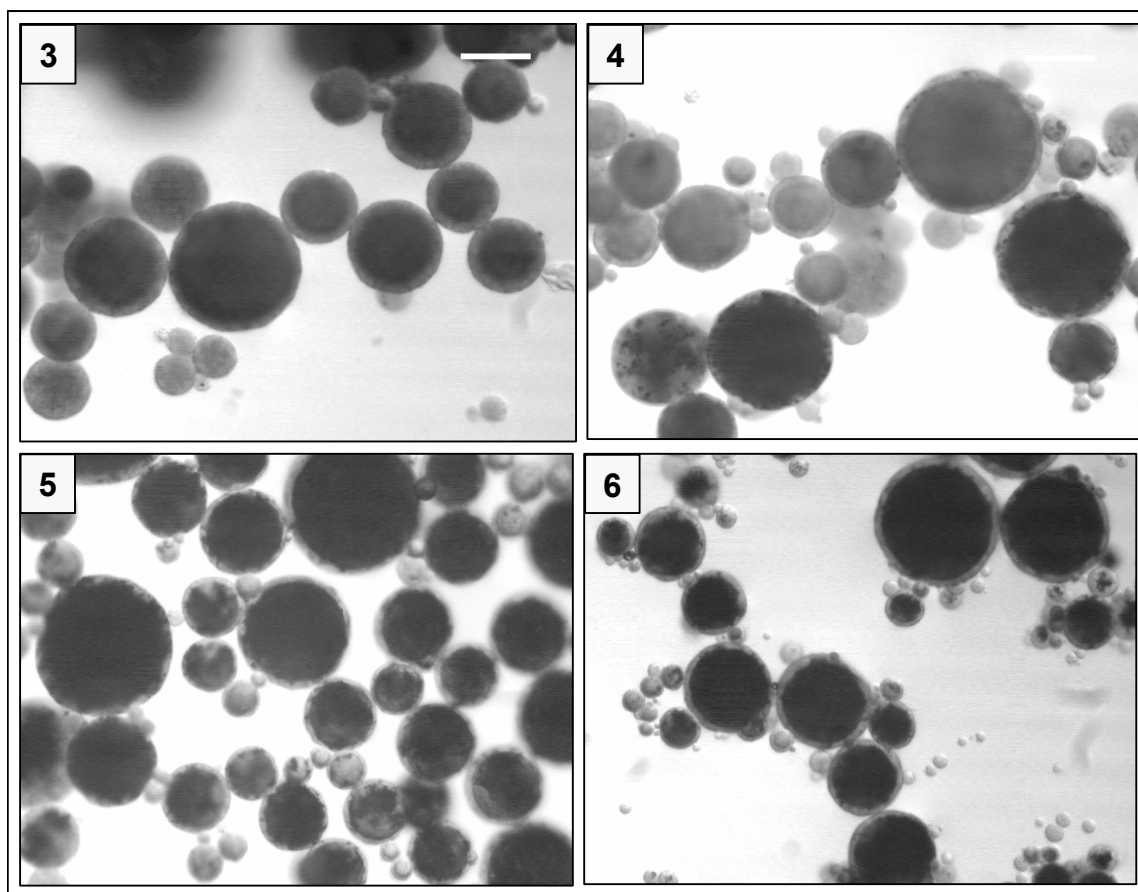


Figura 41 - Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas de misturas de ácido esteárico e ácido oléico. Proporções: (Mistura 3) 70/30, (Mistura 4) 80/20, (Mistura 5) 90/10 e (6) 100/0. Aumento 12,5 x. Barra = 100µm

A Figura 42 mostra as imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO). Como nas misturas dos ácidos graxos, nota-se também uma forma esférica, mononucleada e uma grande quantidade de recheio (glicose) em todas as misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH), demonstrando uma alta eficiência de encapsulação. Todas as misturas apresentaram partículas menores com ausência de recheio.

Chambi *et al* (2008) estudaram micropartículas lipídicas contendo como recheio compostos de diferentes massas molares solúveis em água e obtiveram partículas esféricas com tamanhos variáveis.

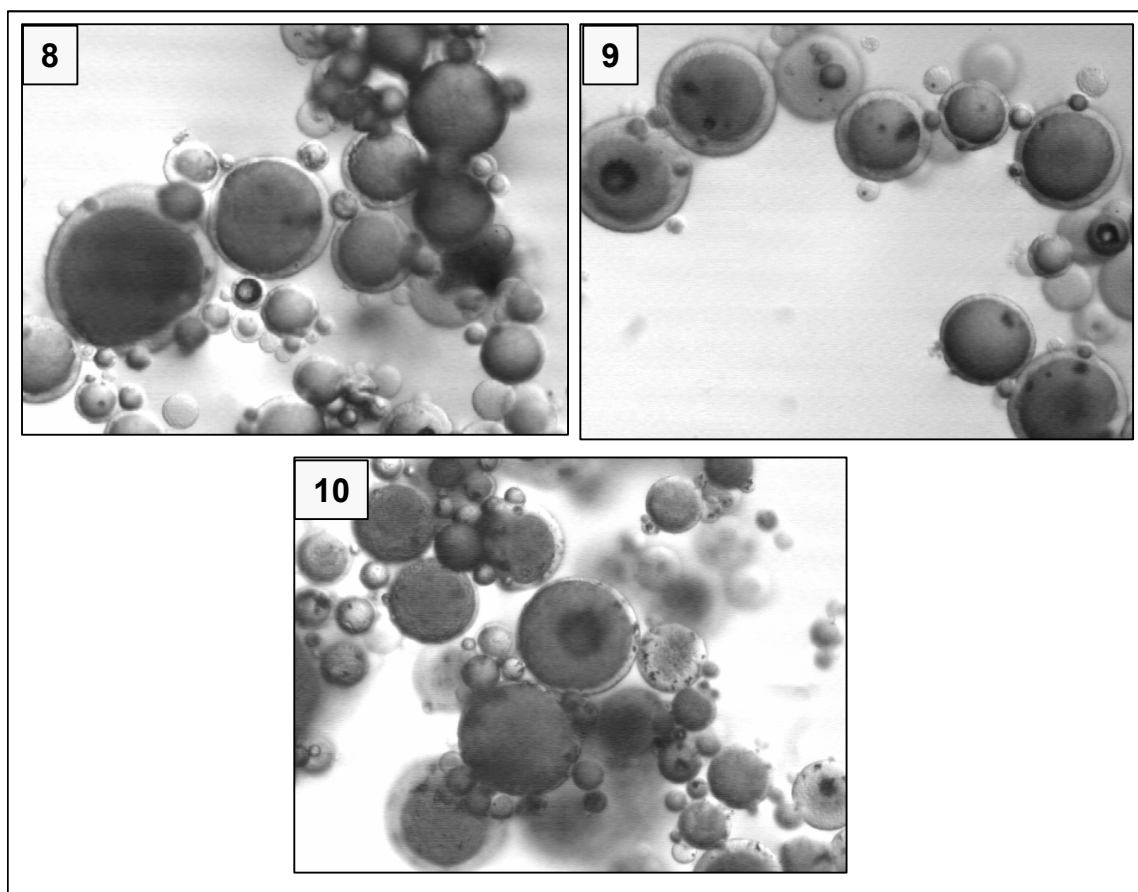


Figura 42 - Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico. Proporções: (Mistura 8) 60/40, (Mistura 9) 70/30 e (Mistura 10) 80/20. Aumento 12,5 x. Barra = 100µm

As imagens observadas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas das misturas de álcool cetoestearílico (ACE) e ácido oléico (AO) são mostradas na Figura 43. Verifica-se uma forma esférica, mononucleada e uma grande quantidade de recheio (glicose) em todas as amostras, mostrando uma alta eficiência de encapsulação, como nos grupos anteriores. Todas as amostras apresentaram partículas menores com ausência de recheio.

Pode-se afirmar que 75% mistura lipídica / 25% solução glicose a 40% / 5% de lecitina de soja (HLB 4,7) é uma boa proporção para encapsular um recheio hidrofílico. O tamanho da partícula pode ser manipulado pela variação do tamanho do orifício do bico pulverizador, pela taxa de fluxo de ar e da solução a ser pulverizada, e pela relação entre os mesmos.

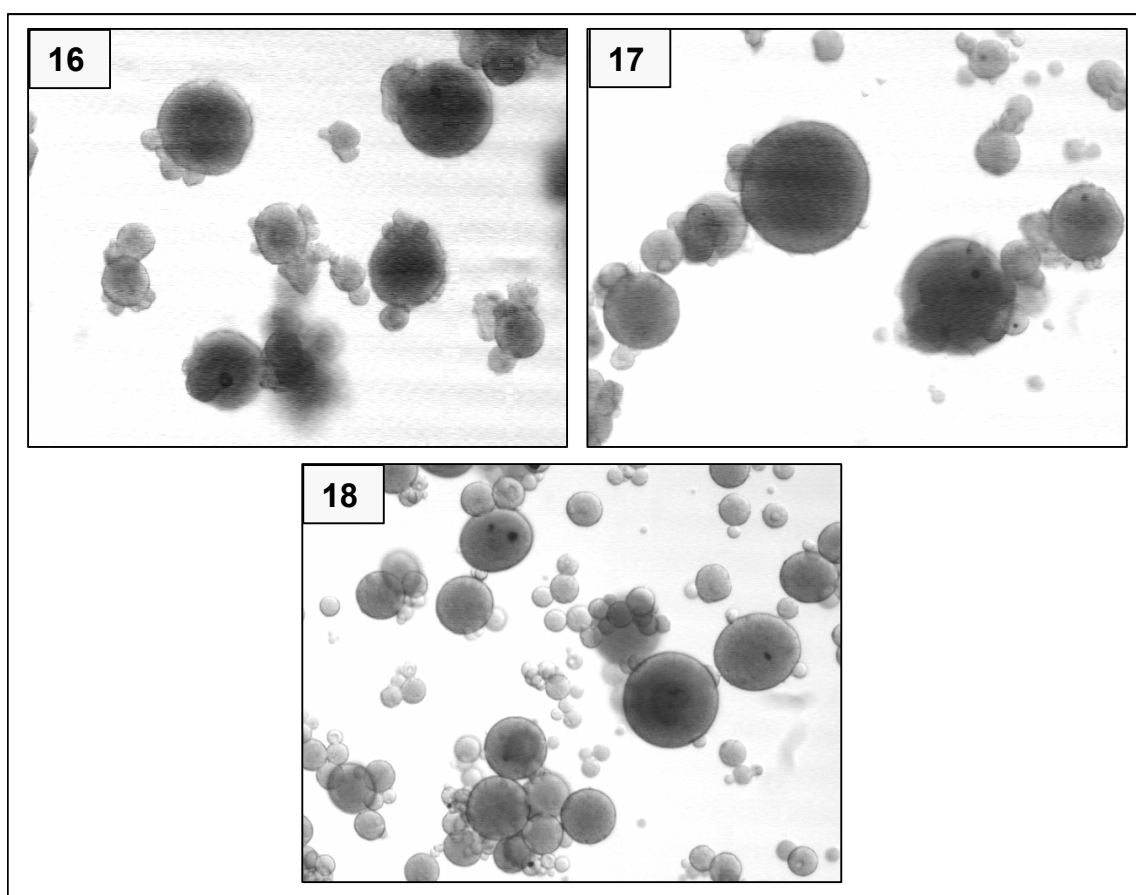


Figura 43 - Imagens obtidas por microscopia óptica das micropartículas lipídicas de misturas de álcool cetoestearílico e ácido oléico. Proporções: (Mistura 16) 80/20, (Mistura 17) 90/10 e (18) 100/0. Aumento 12,5 x. Barra = 100µm

Foram analisados os três grupos de micropartículas lipídicas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As imagens obtidas para as misturas dos ácidos graxos estão apresentadas nas Figuras 44 a 47. As imagens mostram uma morfologia com superfície rugosa, esférica, contínua e com pequenos furos, supostamente micro bolhas (espuma), diminuindo nas amostras com menor quantidade de ácido oléico e sendo isentas somente no ácido esteárico puro.

A rugosidade foi devido ao ácido esteárico, como identificado em estudos anteriores (RODRIGUEZ *et al*, 1999; SAVOLAINEN *et al*, 2002). Observou-se também que quanto menor a proporção do ácido oléico, a superfície torna-se mais lisa. Na Figura 45, a imagem 4a mostra uma micropartícula cortada revelando que a parte interna é maciça, conseqüentemente, o recheio está localizado por toda a extensão da partícula. Observa-se também que os furos estão localizados somente na superfície da micropartícula. Na Figura 47, as imagens 6 / 6a mostram que o tamanho de partícula diminuiu em relação às demais, o que foi constatado pela análise de tamanho de partícula (item 5.4.1.1).

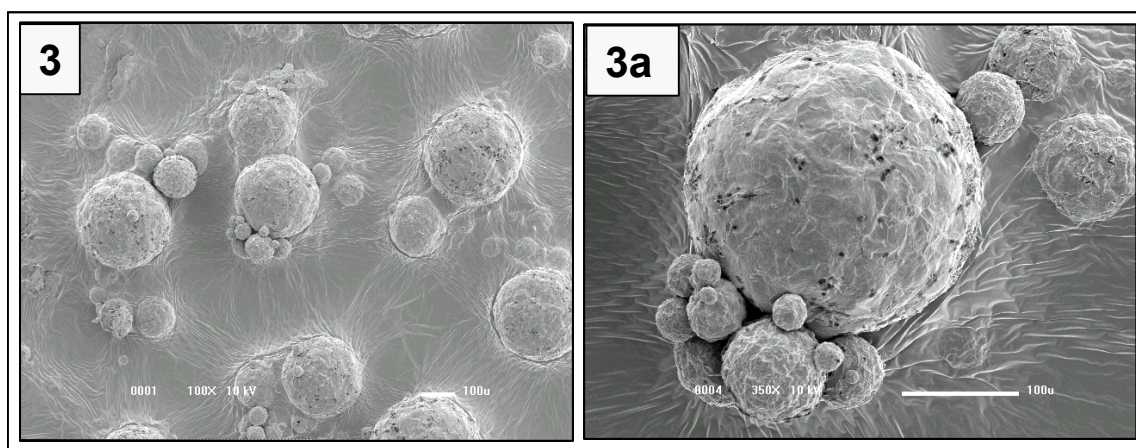


Figura 44 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de ácido esteárico e ácido oléico (proporção lipídica 70/30) imagens 3 (100x) e 3a (350x).

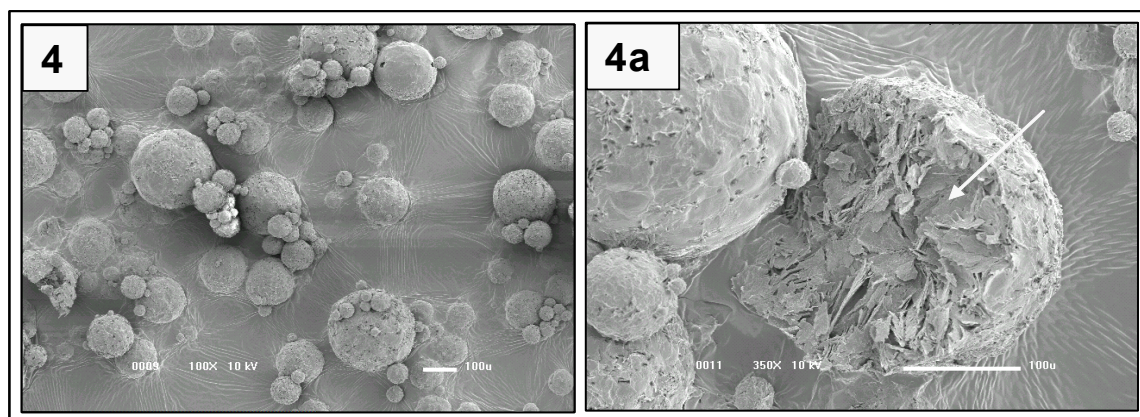


Figura 45 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de ácido esteárico e ácido oléico (proporção lipídica 80/20) imagens 4 (100x) e 4a (350x).

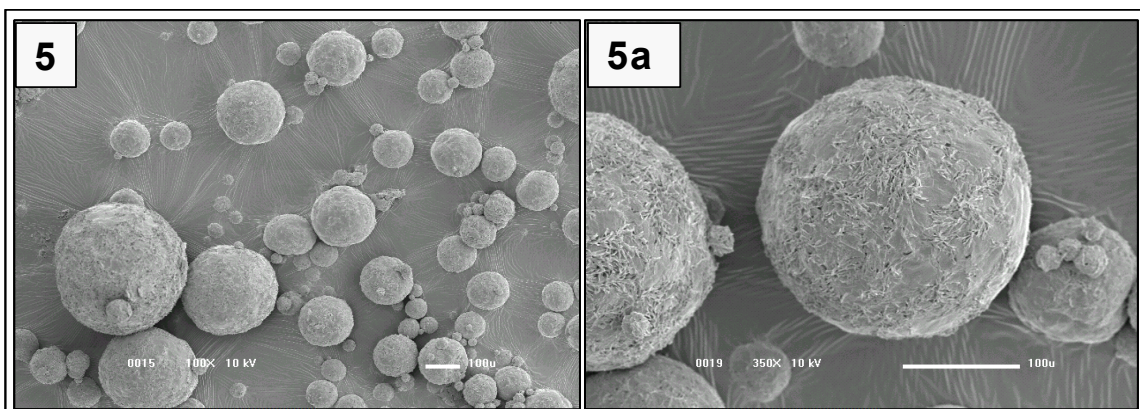


Figura 46 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de ácido esteárico e ácido oléico (proporção lipídica 90/10) imagens 5 (100x) e 5a (350x).

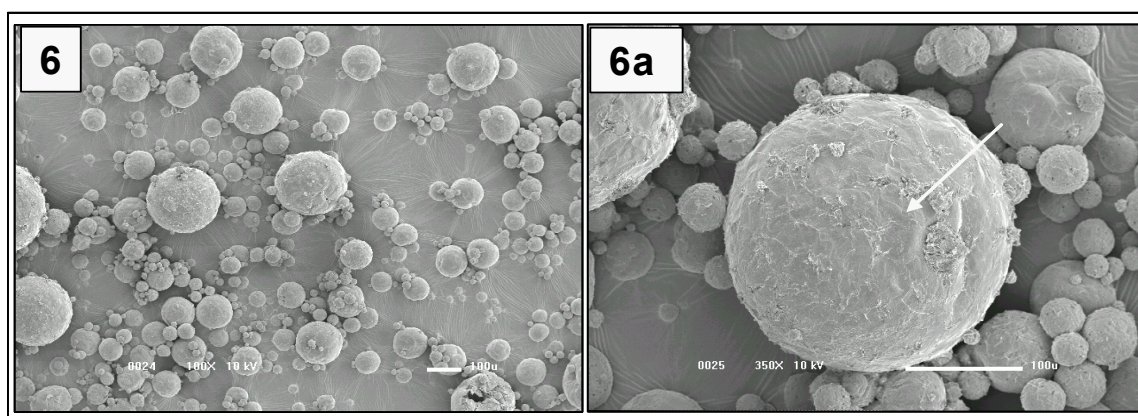


Figura 47 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas de ácido esteárico (proporção lipídica 100:0) imagens 6 (100x) e 6a (350x).

As Figuras 48 a 50 mostram as imagens das micropartículas das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) e ácido oléico (AO). Observa-se uma morfologia com superfície lisa, bem esférica, contínua e com pequenos furos, semelhante às amostras anteriores. As imagens 9a (Figura 49) e 10a (Figura 50) apresentam uma superfície mais lisa e bem arredondada, nestas amostras o teor de AO é menor. Guo *et al* (2005) estudaram microcápsulas lipídicas utilizando óleo de soja totalmente hidrogenado para encapsular aspirina pelo processo de *spray congealing* e obteve partículas na forma esférica e lisa.

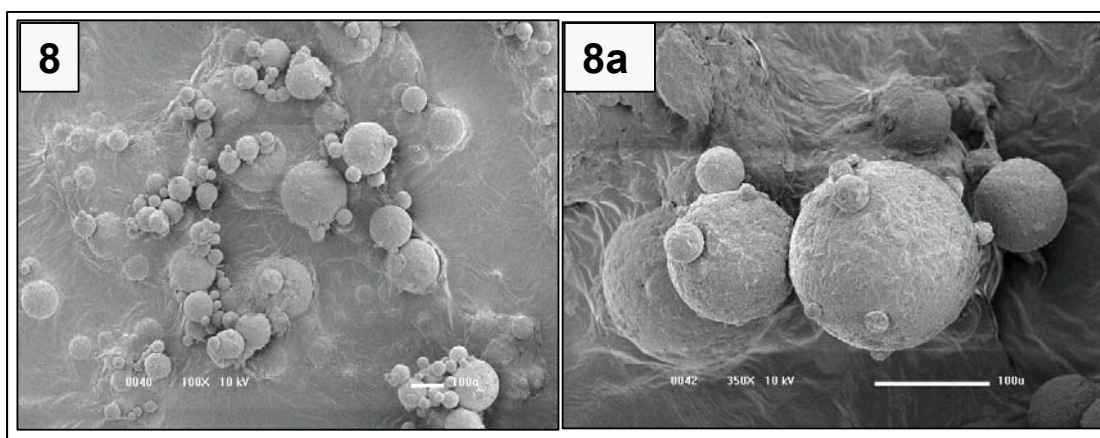


Figura 48 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (proporção lipídica 60/40) imagens 8 (100x) e 8a (350x).

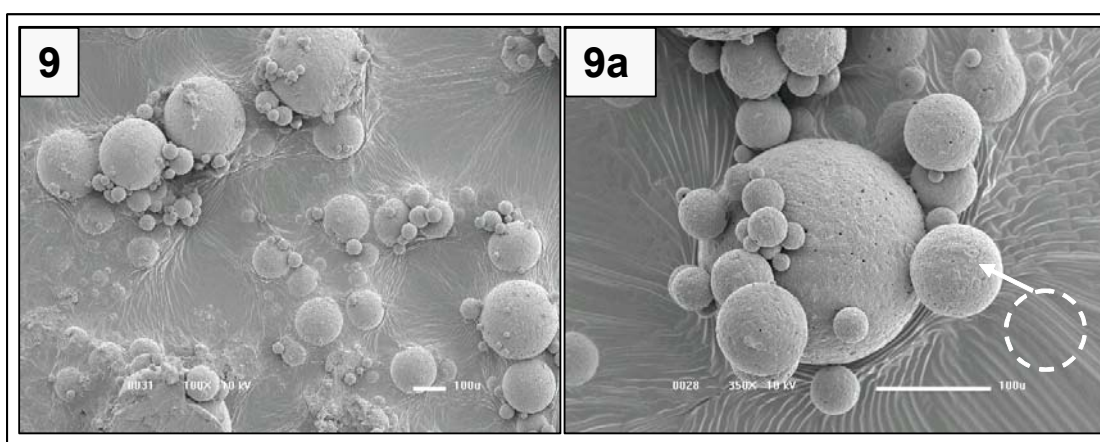


Figura 49 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (proporção lipídica 70/30) imagens 9 (100x) e 9a (350x).

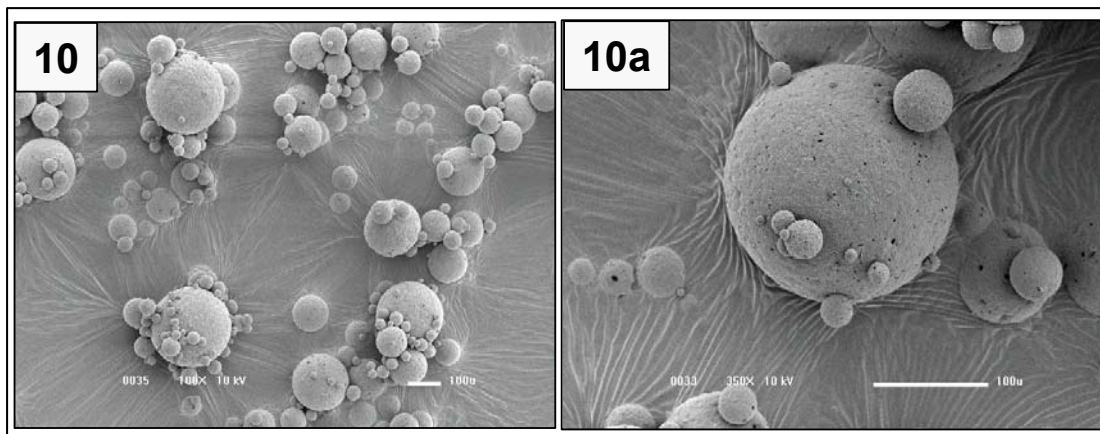


Figura 50 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas da mistura de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (proporção lipídica 80/20) imagens 10 (100x) e 10a (350x).

As imagens das micropartículas das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico são representadas nas Figuras 51 a 53. Observa-se uma morfologia com superfície rugosa, esférica, suave, contínua e com pequenos furos. A imagem 18a (Figura 53) apresenta uma superfície mais lisa; nesta amostra, o teor de ácido oléico é menor. Segale *et al* (2008) estudaram micropartículas utilizando álcool cetosteárilico como matriz, propafenona como recheio e Pluronic F-68 como emulsificante pelo processo *hot air coating*. As partículas apresentaram uma morfologia com superfície rugosa, esférica, contínua e com pequenos furos, semelhante às imagens abaixo.

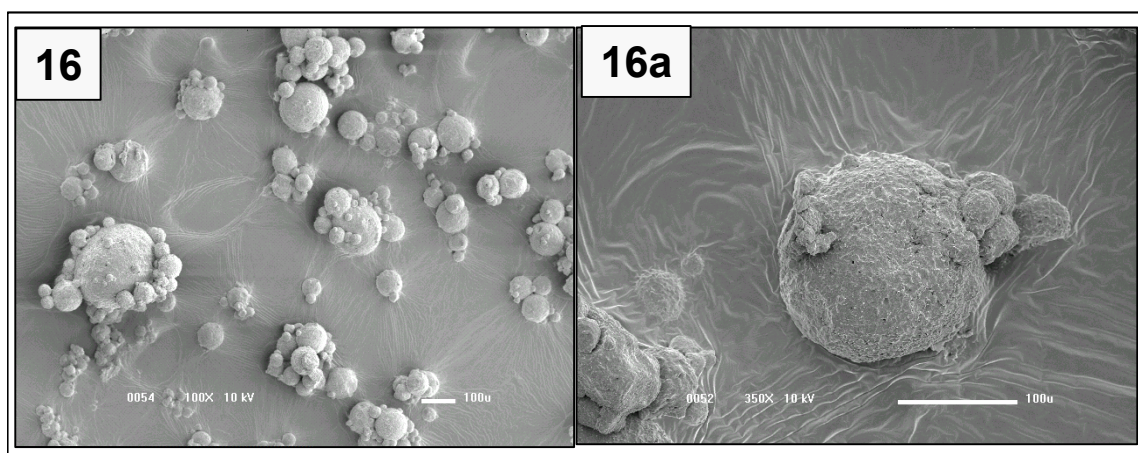


Figura 51 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico (proporção lipídica 80/20) imagens 16 (100x) e 16a (350x).

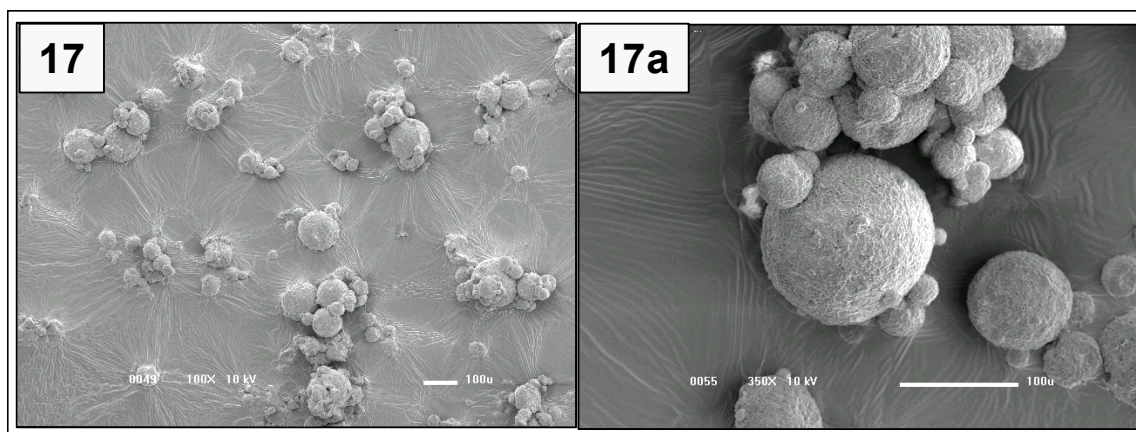


Figura 52 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas das misturas de álcool cetoestearílico e ácido oléico (proporção lipídica 90/10) imagens 17 (100x) e 17a (350x).

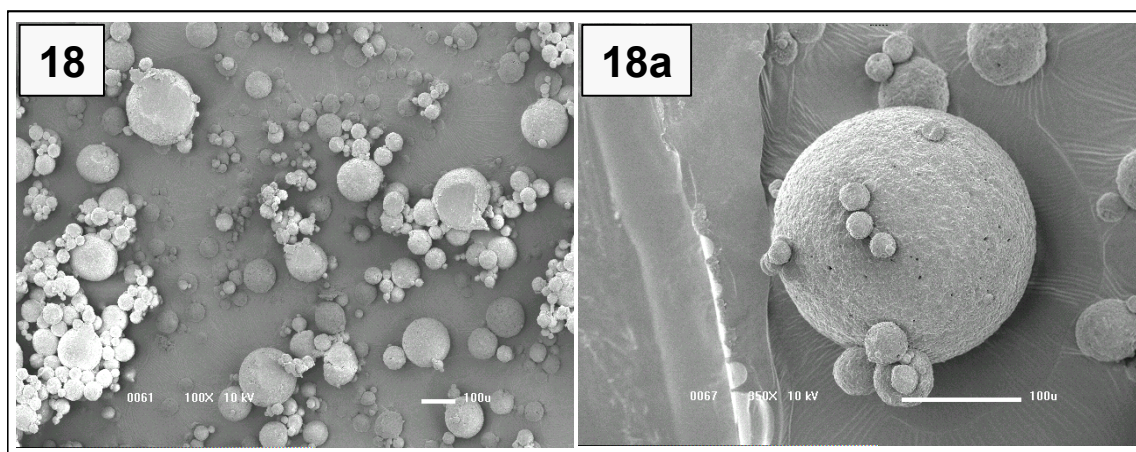


Figura 53 - Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das micropartículas das misturas de álcool cetoestearílico e ácido oléico (proporção lipídica 100/0) imagens 18 (100x) e 18a (350x).

Comparando as imagens das micropartículas obtidas pelo MEV com os resultados experimentais de processo, pode-se afirmar que o melhor grupo, com relação a estabilidade, foi do ácido esteárico, seguido pelo óleo de soja totalmente hidrogenado e depois pelo álcool cetoestearílico, o qual obteve uma maior adesão entre as partículas, como mostra a imagem 18.

6.4.1.3 Determinação da eficiência de encapsulação efetiva e glicose superficial

Ao realizar uma análise de todas as misturas estudadas, os resultados mostraram que a melhor eficiência de encapsulação foi obtida com a Mistura 3 de ácido esteárico e ácido oléico (70/30 – AE/AO), onde a proporção de ácido oléico é maior comparada às amostras do mesmo grupo e, conseqüentemente, houve menor porcentagem de glicose superficial. A Tabela 17 apresenta as porcentagens da encapsulação efetiva e a glicose superficial de todas as misturas lipídicas. Observa-se nas misturas de AGs e TAGs que a eficiência de encapsulação é diretamente proporcional a concentração de ácido oléico nas misturas e inversamente proporcional a quantidade de glicose superficial. Todas as amostras das misturas de AG's e TAG's apresentaram altas porcentagens de encapsulação efetiva (acima de 70%). Por outro lado, a quantidade de lecitina é igual em todas as amostras (5% sobre o lipídio), com valor de balanço hidrofílico-lipofílico igual a 4,7 como surfactante, proporcionando uma emulsão água em óleo.

Portanto, pode-se concluir que a presença e a quantidade de ácido oléico (AO) nestas misturas, devido a sua forma líquida e insaturações, auxiliou a retenção do recheio ao modificar a cristalização e alterar a forma polimórfica da fase lipídica, evitando a expulsão do recheio.

Quando se observa os resultados da Mistura 6, torna-se mais evidente o efeito do ácido oléico. Onde a fase lipídica é constituída somente pelo ácido esteárico, a eficiência de encapsulação diminui para 75,1% e a glicose superficial aumenta para 23,7%.

Nas misturas do óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) a menor eficiência de encapsulação efetiva foi 91,6%, relacionada à menor adição do AO na Mistura 10 (80/20 - STH/AO) e a glicose superficial de 7,4%. Na Mistura 8, houve a maior encapsulação das misturas do STH, com 94,3%, e glicose superficial de 3,8%. Neste caso, a proporção de AO foi a maior das misturas (60/40 - STH/AO).

Müller *et al* (2002a) estudaram nanopartículas lipídicas com o objetivo de modificar a estrutura do lipídio sólido da matriz através da adição de um lipídio incompatível para facilitar a acomodação do recheio, durante a cristalização, obtendo maior eficiência de encapsulação. Uma alta incompatibilidade foi obtida pela mistura de lipídios sólidos com lipídios líquidos diferentes quimicamente. Esta técnica possibilitou uma maior estabilidade durante o armazenamento da nanopartícula. Hu *et al* (2005) estudaram a adição de ácido oléico em matrizes lipídicas compostas por ácido esteárico e obtiveram um aumento de eficiência de encapsulação de 40 para 70% com a adição de 30% de ácido oléico, justificada pela mudança do processo de cristalização da matriz lipídica, obtendo maior imperfeição no cristal e eficiência de encapsulação do recheio.

Rodriguez *et al* (1999) desenvolveram um novo atomizador ultrassônico para o processo *spray congealing*. Formulou microcápsulas com ácido esteárico, óleo de mamona hidrogenado, behenato de glicerila e cera de carnaúba como matrizes lipídicas de teofilina e fenbufeno como recheio. A menor eficiência de encapsulação foi obtida com o ácido esteárico e a melhor com a cera de carnaúba. Leonel (2008) obteve também uma alta eficiência de encapsulação, acima de 70%, em todos os experimentos utilizando ácido esteárico, ácido oléico, gordura vegetal hidrogenada como matriz, lecitina de soja como surfactante e solução de glicose com diferentes concentrações como recheio.

Nas misturas do álcool cetosteárilico (ACE), obteve-se baixa eficiência de encapsulação efetiva, na faixa de 3,5% a 9,7%, apesar da adição de ácido oléico. Consequentemente, a glicose superficial foi muito alta, na faixa de 99,7% a 105,7%.

Estes resultados diferem dos grupos anteriores. Pode-se atribuir a interação do álcool cetosteárilico com ácido oléico, como demonstrado nos termogramas (Figuras 29 e 30) e no diagrama de iso-sólidos (Figura 37) das misturas, apresentando um tipo de solução sólida (compatibilidade entre os lipídios).

A solução sólida é formada quando os triacilgliceróis são muito similares no ponto de fusão, volume molecular e forma polimórfica (GIOIELLI, 1996b).

Maschke *et al* (2007) utilizou matriz lipídica para encapsular insulina e foram obtidos resultados de eficiência de encapsulação de 103 a 107%; estes valores maiores que 100% foram atribuídos a uma perda do material lipídico durante o processo de produção das micropartículas.

O álcool cetoestearílico é uma mistura de 66,9% de álcool estearílico e 32,5% de álcool cetílico. A miscibilidade do álcool cetoestearílico com o ácido oléico de composição cromatográfica igual a 83,2% de lipídios insaturados e 16,8% de saturados (C14, C16, C18) é demonstrada nos termogramas, nas curvas de fusão, bem como nas curvas de cristalização.

Tabela 17 - Resultados de eficiência de encapsulação efetiva (%) e glicose superficial (%)

Misturas	Eficiência de encapsulação efetiva (%)	Glicose superficial (%)
AE		
3	96,9 ± 0,2 ^a	2,6 ± 0,3 ^a
4	94,4 ± 0,2 ^b	4,9 ± 0,5 ^b
5	92,7 ± 0,3 ^c	6,8 ± 0,6 ^c
6	75,1 ± 0,7 ^d	23,7 ± 1,9 ^d
STH		
8	94,3 ± 0,8 ^a	3,8 ± 1,8 ^a
9	93,3 ± 0,8 ^b	5,4 ± 1,7 ^{ab}
10	91,6 ± 0,5 ^c	7,4 ± 0,8 ^c
ACE		
16	7,5 ± 4,4 ^a	102,0 ± 2,1 ^a
17	3,5 ± 1,2 ^{ab}	105,7 ± 6,1 ^{ab}
18	9,7 ± 3,7 ^b	99,7 ± 4,4 ^b

Letras iguais, na mesma coluna, não apresentam diferença estatística a $p < 0,05$

6.4.1.4 Avaliação da liberação do recheio em meio aquoso

A Figura 54 mostra o perfil de liberação de glicose das micropartículas lipídicas das misturas de AGs durante 120 minutos em água. As Misturas 3, 4 e 5 apresentaram liberação do recheio ao redor de 30% em 120 minutos. Este valor indica que as matrizes lipídicas utilizadas obtiveram uma eficiente retenção do recheio. A porcentagem de liberação do recheio aumenta conforme diminui a porcentagem de ácido oléico na matriz lipídica, efeito que fica evidente no ácido esteárico puro, onde o valor foi três vezes maior em 120 minutos, ao redor de 90%. Somente o ácido esteárico puro sem adição do ácido oléico atingiu a liberação de recheio de 50% (T-50) num tempo de 49,7 minutos.

As Misturas 4 e 5 apresentaram perfis de liberação similares, apesar da diferença de concentração de ácido oléico. Não foi observado efeito *burst* (alta liberação do recheio no tempo zero) nas misturas de AGs. Os resultados obtidos demonstram uma ótima eficiência de encapsulação e uma taxa eficaz de liberação ao longo do tempo, principalmente nas Misturas 3, 4 e 5 (Figura 54).

O mesmo comportamento foi observado no estudo realizado por Chambi *et al* (2008), onde se avaliou a encapsulação de solução de glicose em diferentes matrizes lipídicas, tanto em tamanho de cadeia como em insaturações: ácido esteárico/ácido oléico e ácido esteárico/ácido láurico. A matriz contendo ácido esteárico/ácido oléico apresentou melhor eficiência de retenção do recheio, independente da concentração de glicose, relação lipídio/solução de glicose e da proporção de tensoativo utilizada nos experimentos. O resultado de T-50, tempo necessário para liberação de 50% de recheio, foi 4,3 vezes maior na mistura ácido esteárico/ácido oléico em relação ao da mistura ácido esteárico/ácido láurico. Isto demonstra que a mistura contendo ácido graxo no estado líquido nas condições de temperatura dos experimentos proporcionou uma partícula mais estável.

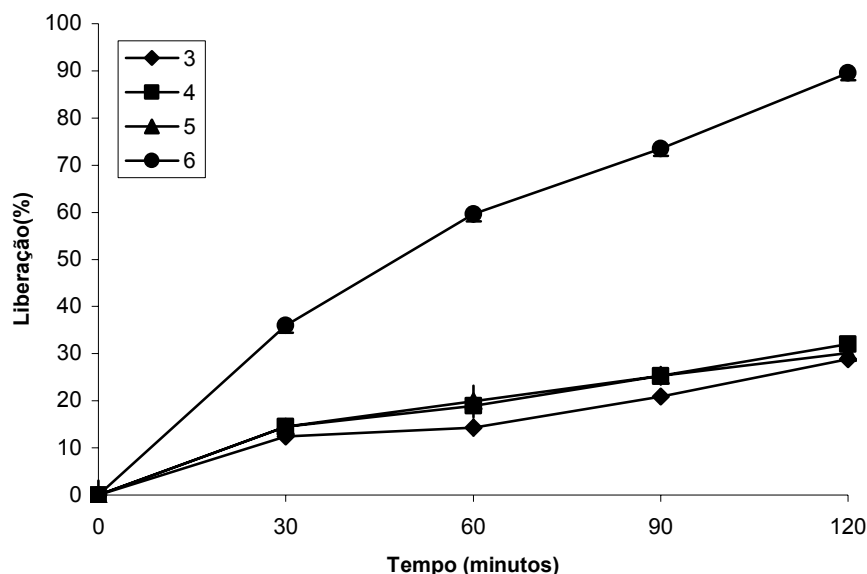


Figura 54 - Liberação (%) de glicose em meio aquoso das misturas de ácido esteárico e ácido oléico. Mistura 3 (70/30), Mistura 4 (80/20) Mistura 5 (90/10) e 6 (100/0)

A Mistura 10, de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico (80/20) apresentou resultado de liberação do recheio de 50% (T-50) em um tempo de 63,6 minutos, comparada com as demais misturas deste grupo. A Mistura 9 na proporção de 70/30 (STH/AO) obteve um tempo de 73,7 minutos. A Mistura 8 na proporção de 60/40 (STH/AO) apresentou o resultado no tempo de 98,3 minutos. A Figura 55 mostra que o tempo de liberação do recheio é diretamente proporcional a quantidade de ácido oléico na matriz lipídica, menor na Mistura 10 que possui a menor proporção de ácido oléico (80/20).

A adição do ácido oléico (AO) ao óleo de soja totalmente hidrogenado (STH) obteve uma menor eficiência de encapsulação com relação às misturas de AG's, e uma liberação mais rápida do recheio, contudo pode ser uma outra opção de perfil de curva em futuras aplicações destas microcápsulas lipídicas.

Guo *et al* (2005) estudaram a liberação de aspirina encapsulada em óleo de soja hidrogenado como matriz lipídica, na relação de 1:5 em diferentes tamanhos de micropartículas. O objetivo do estudo foi investigar o tamanho das micropartículas

com relação à liberação do recheio e o seu mecanismo. Foram produzidas micropartículas com alta eficiência de encapsulação. Os tamanhos de partículas variaram de 90 a 355 μm . A liberação foi realizada em pH 1,2 e pH 6,8 em água. Foi concluído, que quanto maior o tamanho de partícula menor a liberação do recheio. Obteve-se um modelo de primeira ordem ou Higuchi para partículas menores e de ordem zero para maiores.

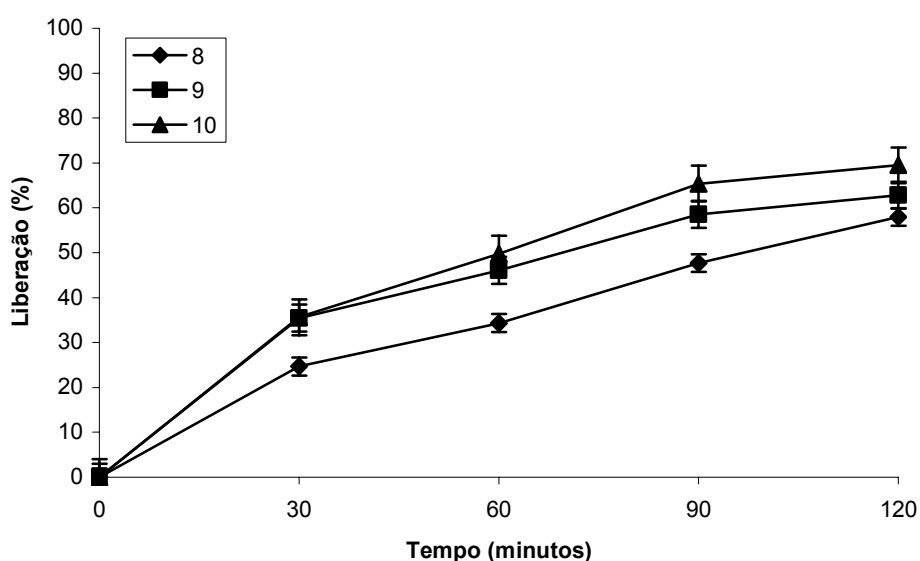


Figura 55 - Liberação (%) de glicose em meio aquoso das misturas de óleo de soja totalmente hidrogenado e ácido oléico. Proporções: Mistura 8 (60/40) Mistura 9 (70/30) e Mistura 10 (80/20)

Nas misturas de ACE, houve o efeito *burst*: a glicose foi totalmente liberada nos primeiros minutos de análise (Figura 56). Aos 30 minutos a liberação estava acima de 100%. Isto ocorreu para todas as amostras, mesmo o ACE puro.

Este fato pode ser explicado pela expulsão do recheio durante a cristalização da matriz lipídica, devido ao rápido resfriamento obtido pelo processo de *spray chilling* (cinética de cristalização). Pode-se concluir que o processo de nucleação é

muito rápido. No super resfriamento para formação das micropartículas, as moléculas de lipídios têm pouco tempo para se reorganizar e não podem adotar sua conformação mais favorável termodinamicamente. Isto proporciona a formação de um sólido menos ordenado, dependendo da viscosidade da massa, a transferência de calor é limitada, dificultando assim a forma mais estável do cristal (MARANGONI, 2005a).

Foi investigada a matriz lipídica no item 5.2.2.2 (conteúdo de gordura sólida) e observada a similaridade das curvas de iso-sólidos das misturas de ACE (Figura 37), demonstrando a compatibilidade no estado sólido, como também observado nos termogramas de fusão e cristalização (Figuras 24 e 25).

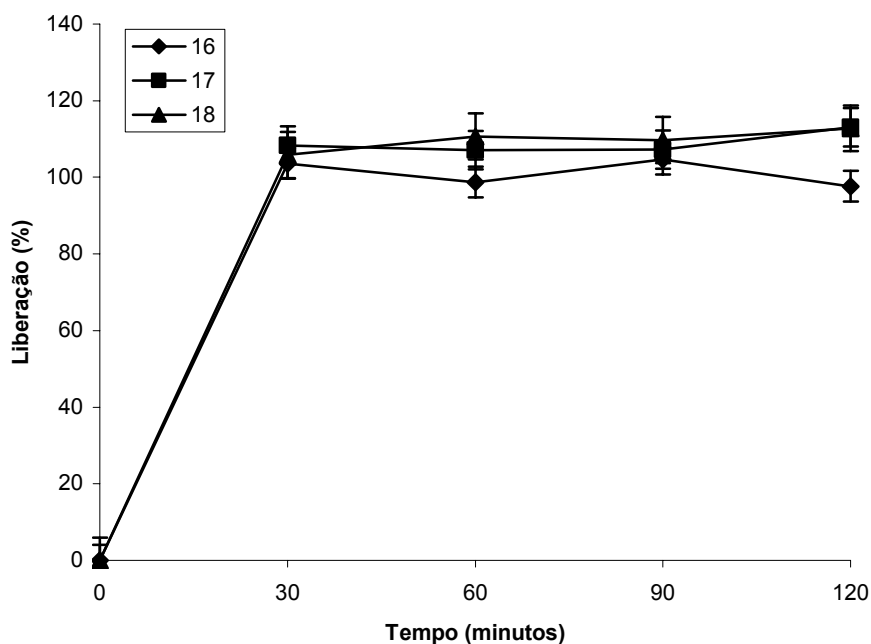


Figura 56 - Liberação (%) de glicose em meio aquoso das misturas de álcool cetosteárilico e ácido oléico. Proporções: Mistura 16 (80/20), Mistura 17 (90/10) e 18 (100/0)

Em emulsões, a atração é dependente das forças de *van der Waals*, considerando que a repulsão é devida à presença de surfactantes na interface. Um

dos mecanismos que contribui para a instabilidade da emulsão é a inversão de fases que pode ser provocada pela variação de temperatura. A localização de um cristal dentro da emulsão é muito importante. O cristal pode estar presente dentro das fases contínua ou dispersa ou dentro da interface. Com o resfriamento os cristais das gorduras crescem e rompem a interface entre os dois glóbulos, colidindo, provocando a agregação e a eventual inversão de fase. Outro fator que afeta potencialmente o rompimento da gotícula é a orientação dos cristais na interface. Os cristais das gorduras têm muito mais probabilidade de romper gotículas da emulsão quando sua parte aguda esta em direção à interface (ROUSSEAU, 2000).

Outro fator que pode ter acelerado a inversão de fase é a composição química da glicose. Carboidrato de função mista poliálcool-aldeído que possui cinco radicais-OH, proporcionando a interação na cristalização com -OH do álcool cetosteárilico. Outra hipótese de interação seria o valor do HLB = 4,7 da lecitina de soja ser semelhante ao do ACE (ALBERTINI, 2008) e a quantidade de 5% desta utilizada como emulsionante.

Gandolfo *et al* (2004) estudaram misturas de ácidos graxos e álcoois graxos de mesma cadeia (C16 – C22) a 5% em óleo de girassol. Efeito de sinergismo foi encontrado na mistura 70/30 (p/p) de álcool estearílico / ácido esteárico devido à microestrutura do material compósito. O grande número de pequenos cristais observados na mistura foi atribuído a efeitos sobre a cristalização cinética, resultando na mínima tensão interfacial, causados pela nucleação heterogênea, alta taxa de nucleação ou modificação no comportamento cristalino.

7 CONCLUSÕES

O estudo térmico (DSC e SFC) apresentou uma redução nas temperaturas de fusão e cristalização das misturas lipídicas diretamente proporcional à adição do ácido oléico (AO). Nas misturas de ACE e AO, a interação foi maior, devido ao alargamento das curvas de fusão e interação de alguns picos. No SFC e no diagrama de iso-sólidos foi observada também uma maior compatibilidade na mistura de ACE e AO.

A distribuição do tamanho de partícula variou de 1 a 350 μm , com a maioria das partículas entre 50 – 150 μm e diâmetro médio de 81 – 115 μm para todas micropartículas.

Na morfologia e microestrutura, observou-se uma forma esférica, mononuclear, rugosa (AE) e lisa (STH e ACE), com grande quantidade de recheio em todas as micropartículas.

A adição do lipídio líquido (AO) ao lipídio sólido (AE e STH, ACE) foi um fator determinante na modificação da cristalização da mistura lipídica proporcionando uma alta eficiência de encapsulação. A adição do AO ao AE e à SHT proporcionou uma alta eficiência de encapsulação, maior que 75%, enquanto que no ACE foi baixa, no valor máx. de 9,7%.

As liberações do recheio por duas horas em meio aquoso foram avaliadas e apresentaram valores de 28 a 89% ao término deste período para as misturas do AE e do SHT. Nas misturas do ACE, a liberação foi acima de 100% nos primeiros 30 minutos (efeito *burst*). A glicose superficial é inversamente proporcional à quantidade de AO, resultado semelhante à capacidade de liberação do recheio hidrofílico.

O resultado ocorrido nas misturas de ACE pode ser explicado pela inversão de fases da emulsão provocada pela brusca variação de temperatura e pela interação da mistura binária dos lipídios ACE e AO, onde foram formados pequenos cristais, devido à alta taxa de nucleação e modificação no comportamento cristalino.

8 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

Pesquisar matrizes com lipídios de diferentes tamanhos de cadeias e estrutura química, como por exemplo, cera de carnaúba, ácido behênico, etc.

Pesquisar modificações da rede cristalina versus liberação do recheio com misturas binárias compostas por lipídios de duplas ligações e saturados de comprimento de cadeias diferentes.

Análises de estudo de estabilidade e liberação do recheio em diferentes temperaturas.

Realização de estudos com grupo AE/AO com diferentes recheios hidrofílicos. Avaliar a interação do recheio com a matriz.

Verificação do comportamento do grupo AE/AO com relação a liberação de recheio com diferentes emulsionantes a base de ésteres de sorbitan, com variação do tamanho da cadeia carbônica e etoxilação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; VIEIRA, J. Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry. **Food Research International**, v. 41, p. 751 – 757, 2008.

ALBERTINI, B.; PASSERINI, N.; PATTARINO, F.; RODRIGUEZ, L. New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n.1, p. 348-357, 2008.

ALMEIDA, D. F. S. B. **Desenvolvimento e aplicação de gorduras low trans em margarina e bolo tipo inglês**. Campinas - SP, 2008. p. 44. Tese de Doutorado - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas.

ANTONIOSI FILHO, N.R.; MENDES, O.L.; LANÇAS, F.M. **Chromatographia**, v. 40, p.557, 1995a.

ANTONIOSI FILHO, N.R. **Análise de óleos e gorduras vegetais utilizando métodos cromatográficos de alta resolução e métodos computacionais**. Tese de doutorado. Instituto de Química. Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995b.

ARRUZAZABALA, M.L.; CARBAJL, CARBAJAL,D.; MAS, R.; MOLINA, V.; VALDES, S.; LAGUNA, A. Cholesterol-lowering effects of policosanol in rabbits. **Biological research**, v.27 (3-4): 205-8, 1994.

BANVILLE, C.; VUILLEMARD, J.C.; LACROIX, C. Comparison of different methods for fortifying cheddar cheese with vitamin D. **International Dairy Journal**, v. 10, p. 375 -382, 2000.

BECHER, P.. Emulsions – Theory and Practice. **Reinhold Publishing Corporation**. New York, USA, 1957.

BJERREGAARD, S.; PEDERSEN, H.; VEDSTESSEN, H.; VERMEHREN, C.; SÖDERBERG I.; FROKJAER, S. Parental water/oil emulsions containing hydrophilic compounds with enhanced in vivo retention: formulation, rheological characterization and study of in vivo fate using whole body gamma-scintigraphy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 215, p. 13-17, 2001.

CAMPOS, R. Experimental methodology. In A. G. Marangoni (Ed.), **Fat crystal networks** (pp. 267–349). New York: Marcel Dekker, 2005.

CANEVAROLO JR., S.V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. Artliber Editora Ltda. São Paulo, Brasil, 1ª Ed. p.229-235, 2004.

CAVALLI, R.; PEIRA, E.; CAPUTO, O.; GASCO, M.R. Solid lipid nanoparticles as carriers of hydrocortisone and progesterone complexes with b-cyclodextrins, **Int. J. Pharm.**, v.182, p. 59-69, 1999.

CEDEÑO, F.O.; PRIETO, M.M.; ESPINA, A.; GARCÍA, J.R. measurements of temperature and melting heat of some pure fatty acids and their binary and ternary mixtures by differential scanning calorimetry. **Termochim. Acta**, 369, p. 39-50, 2001.

CHAMBI, H.N.M.; ALVIM, I.D.; BARREA-ARELLANO, D.; GROSSO C.R.F. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: production, characterization and release profiles. **Food Research International**, v. 41, p. 229-236, 2008.

CHIOU, D.; LANGRISH, T.A.G. Development and characterisation of novel nutraceuticals with spray drying technology. **Journal of Food Engineering**, vol. 82, p.84-91, 2007.

CHIU, M.C. **Síntese de lipídios estruturados por interesterificação de gordura de frango e triacilgliceróis de cadeia média**. São Paulo, 2006. p.177. Tese de Doutorado- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de São Paulo.

CHIU, C.M.; GIOIELLI, L.A.; GRIMALDI, R. lipídios estruturados obtidos a partir da mistura de gordura de frango, sua estearina e triacilgliceróis de cadeia média. Composição em ácidos graxos e em triacilgliceróis. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 232-237, 2008.

COSTA, M.C.; ROLEMBERG, M.P.; BOROS, L.A.; KRÄNENBÜHL, M.A.; OLIVEIRA, M.G.; MEIRELLES, J.A. Solid-liquid equilibrium of binary fatty acid mixtures. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 52, n. 1, p. 30-36, 2007.

DADARLAT, D.; BICANIC, D.; GIBKES, J.; KLOEK, W.; VAN DEN DRIES, I.; GERKEMA, E. Study of melting processes in fatty acids and oils mixtures. A comparison of photopyroelectric (PPE) and differential scanning calorimetry (DSC). **Chemistry and Physics of Lipids**, Limerick, v. 82, p. 15-23, 1996.

DANIELS, R.L.; KIM, H.J.; MIN, D.B. Hydrogenation and interesterification effects on the oxidative stability and melting point of soybean oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 6011-6015, 2006.

DELADINO, L.; ANBINDER, P.S.; NAVARRO, A.S.; MARTINO, M.N. Co-cristalização of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) and mineral salts within a sucrose matrix. **Journal of food engineering**, v.80, p. 573-580, 2007.

DESAI, K. G.H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v. 23, p. 1361-1394, 2005.

DZIEZAK, J. D.. Microencapsulation and Encapsulated Ingredients. **Food Technology**, n. 42, p. 136-151, 1988.

ELDEM, T.; SPEISER, P.; HINCAL, A. Optimization of spray-dried and Congealed lipid micropellets and characterization of their surface morphology by scanning electron microscopy. **Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 1, p.47 -54, 1991a.

ELDEM, T.; SPEISER, P.; ALTORFERT, H. Polymorphic behavior of sprayed lipid micropellets and its evaluation by differential scanning calorimetry and scanning electron microscopy. **Pharmaceutical Research**, v.8, n° 2, p. 184, 1991b.

EMAS, M.; NYQVIST, H. et al. Methods of studying aging and stabilization of spray-congealing solid dispersion with carnauba wax. 1. Microcalorimetric investigation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 197, p. 117-127, 2000.

FINI, A.; RODRIGUEZ, L.; CAVALLARI, C.; ALBERTINI, B.; PASSEERINI, N. Ultrasound-compacted and spray-congealed indomethacin/polyethyleneglycol systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 247, p. 11-22, 2002.

GANDOLFO, F.; BOT, A.; FLÖTER, E. Phase diagram of mixtures of stearic acid and stearyl alcohol. **Thermochimica Acta**, v. 404, p. 9-17, 2003.

GANDOLFO, F.; BOT, A.; FLÖTER, E. Structuring of Edible Oils by Long-Chain FA, Fatty Alcohols, and Their Mixtures. **J. Am. Oil Chem. Soc**, v. 81, p.1-6, 2004.

GARDOLINO, C; BARTOCCINI, M.; FLÖTER, E. The influence of emulsifiers on the crystallization behaviour of a palm oil-based blend. **Europe Journal Lipid Science Technology**, v. 107, p. 616-626, 2005.

GARTI, N.; YANO, J. . The role of emulsifier in fat crystallization. In: GARTI, N; SATO, K. (Ed.). **Crystallization Processes in fats and lipids systems**, cap.6, p. 211-250, 2001.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, vol.40, p. 1107–1121, 2007.

GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, vol. 50, p. 213-234, 1999.

GIOIELLI, L. A. **Misturas binárias e ternárias de gorduras hidrogenadas na formulação de margarinas**. Tese de doutorado em Bioquímico-farmacêutico. Faculdade de ciências farmacêuticas. Universidade de São Paulo, p. 76-77, 1996a.

GIOIELLI, L.A. Misturas de óleos e gorduras na formulação de produtos gordurosos. **Revista óleos & grãos**, São Caetano do Sul, n. 32, p. 24-28, 1996b.

GIOIELLI, L.A. Interesterificação de óleos e gorduras. **Revista Engenharia de Alimentos**, São Paulo, v.4, p.22-24, 1998.

GOUIN, S. Microencapsulation : industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology** , vol. 15, p. 330–347, 2004.

GRIMALDI, R.. **Alternativas tecnológicas para produção de gorduras especiais**. Tese de doutorado em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, p. 149 – 150, 1999.

GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L.A.G.; GIOIELLI, L.A.; SIMÕES, I.S. Interactions in interesterified palm and palm kernel oils mixtures. II- Microscopy and differential scanning calorimetry. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 52, n. 6, p. 363-368, 2001.

GUNSTONE, F. D. & PADLEY F. B.. Lipid Technologies and Applications. *Part 1- Gunstone, F.D., Fatty acids and lipids structure*. New York : Marcel Dekker, Inc, p. 1-16, 1997.

GUNSTONE, F. D.. Lipid chemistry – a personal view of some developments in last 60 years. **Biochimica et Biophysica, Acta** 1631, p. 207-217, 2003.

GUO, Q.; CHAN, L.; HENG, P. Investigation of the release of aspirin from spray-congealed micro-pellets. **Journal of Microencapsulation**, v. 22, n.3, p. 245–251, 2005.

HARTMANN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Pract.**, London, v 22, p. 475-476, 1973.

HARYATI, T.; CHE MAN, Y.B.; SWE, P.Z. Effect of repeated heating on thermal behavior of crude palm oil. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 74, p. 393 - 396, 1997.

HENRY, R.J.; CANNON, D.C.; WILKEMAN, J. Clinical chemistry, principles and techniques, 2^a ed, New York: Harper and Harper Row Publishes, 1974.

HENRY, R. J.; WILKEMAN, J. **Clinical Chemistry, principles and techniques**, 2^a ed. New York: Harper and Harper Row Publishes, 1977.

HIMAWAN, C.; STAROV, V.M.; STAPLEY, A.G.F.. T. Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization. **Advances in Colloid and Interface Science** v. 122, p. 3–33, 2006.

HOMAYOUNI, A.; AZIZI, A.; ENSANI, M.R.; YARMAND, M.S.; RAZAVI, S. H. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. **Food Chemistry**, 2008.

HU, F.Q.; JIANG, S.P.; DU, Y.Z; YUAN, H.; YE, Y.Q.; ZENG, S. Preparation and characterization of estearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 45, p. 167-173, 2005.

HUMPHREY, K.L.; MOQUIN, P.H.L.; NARINE S.S. Phase behavior of a binary lipid shortening system from molecules to rheology. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.80, n. 12, p. 1175-1182, 2003.

HUMPHREY, K.L.; NARINE, S.S. A comparison of lipid shortening functionality as a function of molecular ensemble and shear: crystallization and melting. **Food Research International**, v. 37, p. 11-27, 2004.

HUMPHREY, K. L.; NARINE, S. S. Lipid phase behavior. In A. G. Marangoni (Ed.), **Fat crystal networks** (pp. 83–115). New York: Marcel Dekker, 2005.

INOUE, T.; HISATSUGU, Y.; YAMAMOTO, R.; SUZUKI, M. Solid-liquid phase behavior of binary fatty acid mixtures. 1. Oleic acid/stearic acid and oleic acid/behenic acid mixtures. **Chemistry and physics of lipids**, v. 127, p. 143-152, 2004a.

INOUE, T.; HISATSUGUA, Y.; SUZUKI, M., WANG, Z.; ZHENG, L. Solid–liquid phase behavior of binary fatty acid mixtures 3. Mixtures of oleic acid with capric acid (decanoic acid) and caprylic acid (octanoic acid). **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 132, p. 225–234, 2004b.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and the Food Industry. **Lebensmittelwissenschaft Technologie**, v. 24, n°4, p. 289-297, 1991.

JEON, B.; KIM, N.; HAN, E.; KWARK, H. Application of microencapsulated Isoflavone into milk. **Archives of pharmacal research**. Vol.28, n.7, p. 859-865, 2005.

JIN, Q.; GAO, H.; SHAN, L.; LIU, Y.; WANG, X. Study on grainy crystals in edible beef tallow shortening. **Food Research International**, v. 41, p. 909-914, 2007.

JOHANSSON, D.; BERGENSTAL, B. Lecithins in oil-continuous emulsions. Fat crystal wetting and interfacial tension. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 72, p. 205-211, 1995.

KALNIN D; GARNAUD G; AMENISTSCH H; OLLIVON M. Monitoring fat crystallization in aerated food emulsions by combined DSC and time-resolved synchrotron X-ray diffraction. **Food Research International**, v. 35, p. 927-934, 2002.

KARABULUT, I.; TURAN, S.; ERGIN, G. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 218, p. 224-229, 2004.

KARASULU, E.; KARASULU, H.Y.; ERTAN, G.; KIRILMAZ, L.; GÜNERI, T. Extended release lipophilic indomethacin microspheres: formulation factors and mathematical equations fitted drug release rates. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 19, p. 99-104, 2003.

KLEIN, R. Lecitina de soja (SOLAE) – Obtenção, propriedades e aplicações em alimentos. **SLACA**, Campinas, 2008.

KNOTH, A.; SCHERZE, I.; MUSCHIOLIK, G. Stability of water-in-oil-emulsions containing phosphatidylcholine-depleted lecithin. **Food Hydrocolloids**, v. 19 p. 635–640, 2005.

KOONTZ, J.L.; MARCY, J.E.; O'KEEFE, S.F.; DUNCAN, S.E. Cyclodextrina inclusion complex information and solid state characterization of the natural antioxidants α tocoferol and quercetin. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, p. 1162-1171, 2009.

KOS, B.; SUSKOVIC, J.; BEGANOVIC, J.; GJURACIC, K; FRECE, J.; IANNACCONE, C.; CANGANELLE, F. Characterization of the three selected probiotic strains for the application in food industry. **World for the application in food industry**, v.24, p. 699-707, 2008.

KRUIF, C. G.; WEINBRECK, F.; VRIES R. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, p. 340–349, 2004.

LEONEL, J. A. **Produção e caracterização de partículas lipídicas constituídas por ácidos graxos, gordura vegetal hidrogenada e lecitina na encapsulação de um composto hidrofílico de baixa massa molar**. Teste de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

LIN, S.Y.; KROCHTA, J.M. Fluidized-Bed system for whey protein film coating of peanuts. **Journal of food process engineering**, vol. 29, p 532-546, 2006.

LIEDTKE, S.; WISSING, S.; MÜLLER, R.H.; MADER, K. Influence of high pressure homogenization equipment on nanodispersions characteristics. **International Journal of Pharmaceutics**, v.196, p. 183-185, 2000.

LOISEL, C.; KELLER, G.; LECQ, G.; BOURGAUX, C.; OLLIVON, M. Phase transitions and polymorphism of cocoa butter. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 75, n.4, p 425-439, 1998.

LOPEZ-HERNANDEZ, A.; GARCIA, H.; HILL JR, C. Lipase-catalyzed transesterification of medium-chain triacylglycerols and a fully hydrogenated soybean oil. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 70, n. 6, p. 365 - 372, 2005.

MARANGONI, A.G.; ROUSSEAU, D. Engineering triacylglycerols: The role of interesterification. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, n. 10, p.329- 335, 1995.

MARANGONI, A.G.; ROUSSEAU, D. Is plastic fat rheology governed by the fractal nature of the fat crystal network? **Journal of American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 73, p. 991-993, 1996.

MARANGONI, A.G. Crystallization, structure and functionality of fats. **Food Research International**, Barking, v. 35, n. 10, p. 907-908, 2002.

MARANGONI, A.G. Crystallization Kinetics. In A. G. Marangoni (Ed.), **Fat crystal networks** (p. 21-27). New York: Marcel Dekker, 2005a.

MARANGONI A. G.; TANG, D. ; SINGH, A. P. Non-isothermal nucleation of triacylglycerol melts. **Chemical Physics Letters**, v. 419, p. 259-264, 2005b.

MASCHKE, A.; BECKER, C.; EYRICH, D.; KIERMAIER, J.; BLUNK, T.; GÖPFERICH, A. Development of a spray congealing process for the preparation of insulin-loaded lipid microparticles and characterization thereof. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, p. 175-187, 2007.

MELLENA, M.; VAN BENTHUM, W.A.J.; BOER, B.; VON HARRAS, J.; VISSER, A. Wax encapsulation of water-soluble compounds for application in foods. **Journal of Microencapsulation**, vol. 23, p. 729-740, 2006.

METIN, S. & HARTEL, R.W.. Crystallization of Fats and Oils. **Bailey's Industrial Oli and Fat Products**, 2005.

MISKANDAR, M.S.; CHE MAN, Y.; YUSOFF, M.S.A.; RAHMAN, R.A. Quality of margarine: fats selection and processing parameters. **Asia Pac J Clin Nutr.**, v. 14, n.4, p. 387-395, 2005.

MÜHLEN, A.; MEHNERT, W. Drug release and release mechanism of prednisolone loaded solid lipid nanoparticles, **Pharmazie**, v. 53, p 552, 1998.

MÜLLER, R.H.; MÄDER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 161-177, 2000.

MÜLLER, R.H.; RADTKE, M.; WISSING, A. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 241, p. 121-128, 2002a.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n. 54, sup 1, p. S131-S155, 2002b.

MUKAI-CORRÊA, R.; PRATA, A. S.; ALVIM, I. D.; GROSSO, C.R.F. Controlled release of protein from hydrocolloid gel microbeads before and after drying. **Current Drug Delivery**, v.1, n.1, p.265-273, 2004.

NARINE, S.S.; MARANGONI, A.G. Structure of fat crystal networks to mechanical properties: a review. **Food Research International**, Amsterdam, v.32, n.4, p. 227-248, 1999.

NARINE, S. S.; MARANGONI, A.G. Em: Marangoni AG (ed) **Fat crystal networks**. Marcel Dekker, New York, p 179, 2005.

NASSU, R.. **Estudo do comportamento térmico de óleos e gorduras por calorimetria de varredura diferencial**. Tese de mestrado em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, p 47, 1994.

NASSU, R.T.; GONÇALVES, L.A.G. Determination of melting point of vegetable oils and fats by calorimetry (DSC) technique. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 50, n. 1, p. 16-22, 1999.

NICHOLS, D.S.; SANDEERSON, K. The nomenclature, structure, and properties of food lipids. In: ZDZISLAW, E.; SIKORSKI, E.; KOLAKOWSKA, A. **Chemical and functional properties of food lipids**. 1 ed, New York: CRC Press, 2003, chap. 3.

NIL, T.; ISHII, F. Properties of various phosphatidylcholines as emulsifiers or dispersing agents in microparticle preparations for drug carriers. **Colloids and surfaces Biointerfaces**, vol 39, p.57-63, 2004.

NONGONIERMA, A. B.; ABRLOVA, M.; FENELON, M. A.; KILCAWLEY, K. N. Evaluation of two food grade proliposomes to encapsulate and extract of a commercial enzyme preparation by microfluidization. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, p. 3291-3297, 2009.

NOOR LIDA, H.M.D.; SUNDRAM, K.; SIEW, W.L.; AMINAH, A.; MAMOT, S. TAG composition and solid fat content of palm oil, sunflower oil, and palm kernel olein blends before and after chemical interesterification. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.79, n.11, p.1137-1144, 2002.

O'BRIEN, R.D. Fats and Oils Formulation. In: **Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications**. Ed. O'BRIEN, R.D. Technomic Publishing Company, Lancaster, Pennsylvania, p. 251- 326, 1998.

O'KEEFE, S. F. Nomenclature and classification of lipids. In: AKOH, C.C.; MIN, D.B. **Food lipids – Chemistry, nutrition and biotechnology**. 3 ed, New York: CRC Press, 2007, chap. 1, p. 3 -35.

OLBRICH, C. Lipid-drug conjugate (LDC) nanoparticles as an alternative carrier system with high drug content. **Control release bioactive mater**, v. 27, p. 295-296, 2000.

ÖNAL U.; LANGDON, C.J. Development and characterization of complex particles for delivery of amino acids to early marine fish larvae. **Marine Biology**, v.146, n.5, p. 1031-1038, 2005.

PASSERINI, N.; PERISSUTTI, B.; MONEGHINI, M.; VOINOVICH, D.; ALBERTINI, B.; CAVALLARI, C.; RODRIGUEZ, L. Characterization of Carbamazepine Gelucire 50/13 microparticles prepared by a spray congealing process using ultrasounds. **Journal of pharmaceutical sciences**, v.91, n.3, p. 699-707, 2002.

PASSERINI, N.; PERISSUTTI, B.; ALBERTINI, B.; VOINOVICH, D.; MONEGHINI, M.; RODRIGUEZ, L. Controlled release of verapamil hydrochloride from waxy microparticles prepared by spray congealing. **Journal of Controlled Release**, v. 88, p. 263–275, 2003.

POTHAKAMURY, U. R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Fundamental aspects of controlled release in foods. **Trends in Food Science & Technology**, vol 6, p. 397-406, 1995.

PRATA, A.; ZANIN, M.; RÉ, M; GROSSO, C. Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum Arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver essential oil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, vol. 67, p. 171-178, 2008.

RÉ, M. I. . Microencapsulação em busca de produtos inteligentes. São Paulo: **Ciência Hoje**, v. 27, n 162, p. 24-29, 2000.

REITHMEIER, H.; HERRMANN, J.; GÖPFERICH, A. Development and characterization of lipid microparticles as a drug carrier for somatostatin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 218, p.133–143, 2001.

RIBEIRO, A.P.; GRIMALDI, R.; GIOIELLI, L.A.; GONÇALVES, L. A.G. Zero trans fats from soybean oil and fullyhydrogenated soybean oil: physico-chemical properties and food applications. **Food research International**, v. 42, p. 401-410, 2009a.

RIBEIRO, A. P.; BASSO, R.C.; GRIMALDI, R.; GIOIELLI, L. A.; GONÇALVES, L. A. G.. Instrumental Methods for the Evaluation of Interesterified Fats. **Food analytical methods**, p. 1-21, 2009b.

RODRIGUEZ, L.; PASSERINI, N.; CAVALLARI, C.; CINI, M.; SANCIN, P.; FINI, A. Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray congealing processes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 183, p.133-143, 1999.

ROUSSEAU, D.; HILL, A.R.; MARANGONI, A.G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 2. Microstructure and polymorphism. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.73, n.8, p.973- 981, 1996.

ROUSSEAU, D., MARANGONI, A.G. The effects of interesterification on physical and sensory attributes of butterfat and butterfat-canola oil spreads. **Food Research International**, Amsterdam, v.31, n.5, p.381-388, 1999.

ROUSSEAU, D. Fat crystals and emulsion stability – a review. **Food Research International**, v. 33, p.3-14, 2000.

SATO, K.. Crystallization behaviour of fats and lipids- a review. **Chemical Engineering Science**, vol. 56, p. 2255-2265, 2001.

SATO, K.; UENO, S. Polymorphism in fats and oils. Bailey's industrial oil and fat products, edited by Fereidoon Shahidi Copyright, John Wiley & Sons, Inc. v. 1, ed 6ª, cap 3º, p.77 -120, 2005.

SAVOLAINEN, M.; KHOO, C.; GLAD, H.; DAHLQVIST, C.; JUPPO, A. M. Evaluation of controlled-release polar lipid microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 244, p. 151-161, 2002.

SCHMIDT, W; ROESSLING, G. Novel manufacturing processo of hollow polymer microspheres. **Chemical Engineering**, v.61, p. 4973-4981, 2006.

SEGALE, L.; ALBERTINI, B.; GIOVANELLI, L.; PATTARINO, F. Empirical kinetic model of propafenone release from Hot Air Coating microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 353, p. 124–130, 2008.

SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. Encapsulation of food ingredients. Critical Review in **Food Science and Nutrition**, vol. 33, p. 501-547, 1993.

SHI, Y.; LIANG, B.; HARTEL, R.W. Crystal morphology, microstructure, and textural properties of model lipid systems. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.82, n.6, p. 399-408, 2005.

TAN, C.P.; CHE MAN, Y.B. Differential scanning calorimetric analysis for monitoring the oxidation of heated oils. **Food chem.** London, v. 67, n.2, p. 177-184, 1999a.

TAN, C.P.; CHE MAN, Y.B. Quantitative differential scanning calorimetric analysis for determining total polar compounds in heated oils, **J. Am. Oil Chem. Soc.** Champaign, v. 76, n.9, p. 1047 – 1057, 1999b.

TAYLOR, T. M.; DAVIDSON, R. M.; BRUCE, B.; WEISS, J. Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. **Critical reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 587-605, 2005.

TIMMS, R.E. Phase behavior of fats and their mixtures. **Progress lipids research**. Oxford, v. 23, n.1, p. 1-38, 1984.

TIMMS, R.E.; Physical Properties of Oils and Mixtures of Oils. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 62, p. 241-248, 1985.

TIMMS, R.E. Confectionery fats handbook. **The Oily Press**, Dundee, p 63, 2003.

THIES, C.. How to make microcapsules combined lecture and laboratory manual. **Thies Technology**. St. Louis, Missouri, 1995.

VASILIU, S.; POPA, M.; RINAUDO, M. Polyelectrolyte capsules made of twobiocompatible natural polymers. **European Polymer Journal**, v. 41, p. 923–932, 2005.

VILLAMAGNA, F.; WHITEHEAD, M.A.; CHATTOPADYAY, A.K. A molecular modelling approach to the analysis of present and design of future surfactants for water-in-oil emulsions. **Journal of Molecular Structure**, v. 343, p. 77-103, 1995.

WADA, J.K.A. **Produção de gorduras alimentícias zero trans utilizando óleo de palma, estearina de palma e óleo de soja totalmente hidrogenado**. Tese de Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007, 157 p.

WISSING, S. A.; KAYSER, O.; MÜLLER, R.H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced Delivery Reviews**, v. 56, p. 1257-1272, 2004.

YANKAH, V. V.; AKOH, C.C. Lipase acidolysis of tristearin with oleic or caprylic acids to produce structured lipids. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v.77, n.5, p. 495-500, 2000.

ZEITOUN, M.A.M.; NEFF, W.E.; LIST, G.R.; MOUNTS, T. L. Physichal properties of interesterified fat blends. **J Am Oil Chem Soc**, v. 70, n.5, p. 467-471, 1993.